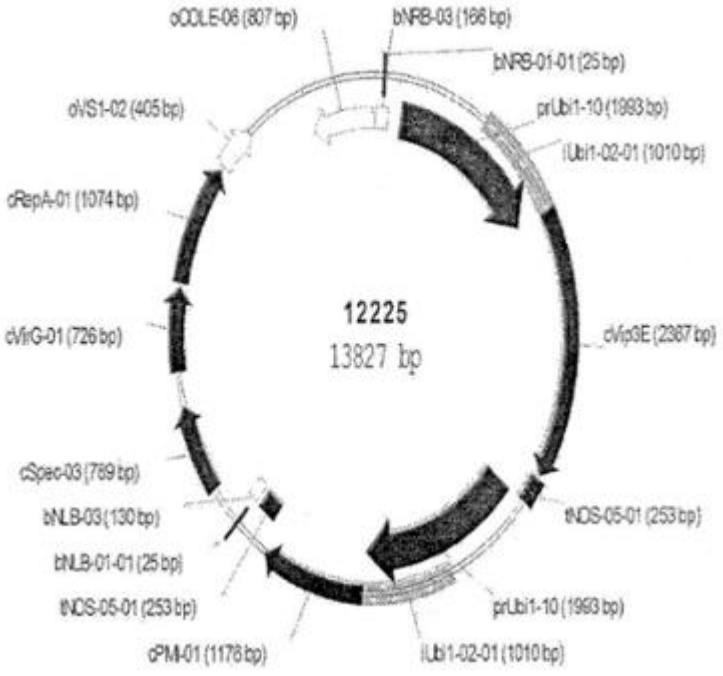
(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ
(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)**
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ
(11) **1-0025914**
(51)[7] **C07K 14/435**
(13) **B**

(21) 1-2014-02569
(22) 23/01/2013
(86) PCT/US2013/022685 23/01/2013
(87) WO2013/122720 22/08/2013
(30) 61/599,583 16/02/2012 US
(45) 26/10/2020 391
(43) 25/12/2014 321A
(73) SYNGENTA PARTICIPATIONS AG (CH)
Schwarzwaldallee 215, CH-4058 Basel (CH)
(72) LEE, Mikyong (US); CHEN, Jeng, Shong (US); DE FONTES, Cheryl, Marie (US); CONVILLE, Jared (US); PALEKAR, Narendra (US).
(74) Công ty TNHH Ban Ca (BANCA)

(54) POLYPEPTIT ĐƯỢC THIẾT KẾ CÓ HOẠT TÍNH DIỆT SINH VẬT GÂY HẠI, PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC MÃ HÓA POLYPEPTIT NÀY, CÂY TRỒNG CHUYỂN GEN, CHẾ PHẨM CHỨA POLYPEPTIT NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP TẠO RA POLYPEPTIT ĐƯỢC THIẾT KẾ CÓ HOẠT TÍNH DIỆT SINH VẬT GÂY HẠI NÀY

(57) Sáng chế đề cập đến các polypeptit được thiết kế diệt sinh vật gây hại ở hoạt tính cao với khả năng kháng phổ rộng các sinh vật gây hại và các phương pháp các polypeptit này được bộc lộ. Các trình tự nucleotit mã hóa polypeptit diệt sinh vật gây hại có thể được sử dụng để biến nạp các sinh vật có nhân sơ và các sinh vật có nhân điển hình để tạo ra các polypeptit diệt sinh vật gây hại. Các sinh vật và/hoặc các polypeptit tái tổ hợp được tạo ra bởi các sinh vật tái tổ hợp có thể được sử dụng để kiểm soát các sinh vật gây hại trong các môi trường khác nhau.



Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến polypeptit được thiết kế có hoạt tính diệt sinh vật gây hại đối với sinh vật đích được biến đổi, các polynucleotit mã hóa polypeptit này, và phương pháp tạo ra và sử dụng polypeptit này và polynucleotit liên quan để kiểm soát các sinh vật gây hại.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Các sinh vật gây hại thực vật là yếu tố chính gây thiệt hại cho cây nông nghiệp quan trọng trên thế giới. Khoảng 8 tỷ USD thiệt hại hàng năm chỉ riêng Mỹ do các sinh vật gây hại không có vú tàn phá bao gồm côn trùng. Ngoài thiệt hại về cây trồng trên cánh đồng, côn trùng gây hại còn là gánh nặng đối với người trồng rau và cây lấy quả, người sản xuất hoa trang trí, và người làm vườn gia đình.

Côn trùng gây hại chủ yếu được kiểm soát nhờ áp dụng chuyên sâu các chất diệt sinh vật gây hại hoá học, có hoạt tính thông qua vệc ức chế sự sinh trưởng của côn trùng, ngăn ngừa sự lớn lên hoặc sinh sôi nảy nở của côn trùng, hoặc gây chết. Do đó, có thể đạt được việc kiểm soát tốt, nhưng các chất hoá học này đôi khi có thể còn ảnh hưởng đến côn trùng có lợi và có thể không thể đến vị trí tàn phá. Vấn đề khác nữa do việc sử dụng rộng rãi các chất diệt sinh vật gây hại hoá học là xuất hiện các loài côn trùng kháng. Điều này có thể được giảm bớt một phần nhờ các kinh nghiệm quản lý đề kháng khác nhau, nhưng có nhu cầu tăng đối với các chất kiểm soát sinh vật gây hại thay thế.

Các tác nhân kiểm soát sinh vật gây hại sinh học, như chủng *Bacillus thuringiensis* biểu hiện các polypeptit diệt sinh vật gây hại như các nội độc tố delta (δ) (còn gọi là các protein Cry), cũng được áp dụng cho cây trồng với kết quả hài lòng, do đó cho phép thay thế hoặc khuyến khích đối với các chất diệt sinh vật gây hại hóa học.

Các gen mã hóa đối với một số trong các protein Cry này đã được phân lập và sự biểu hiện của chúng trong các vật chủ khác loại cho thấy là tạo ra công cụ khác để kiểm soát các côn trùng gây hại quan trọng về kinh tế. Cụ thể là, biểu hiện của các protein Cry ở các thực vật chuyển gen mang lại sự bảo vệ hiệu quả chống một số côn trùng gây hại, và các thực vật chuyển gen biểu hiện các protein này đã được bán trên thị trường, cho phép người nông dân giảm hoặc loại trừ việc áp dụng các tác nhân kiểm soát côn trùng hóa học.

Mặt khác, các gen không mã hóa cho nội độc tố và các protein mà chúng mã hóa cũng được xác định. Các Patent Mỹ số 5,877,012, 6,107,279, 6,137,033, và 6,291,156, cũng như Estruch *et al.,* (1996, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 93:5389-5394) và Yu *et al.,* (1997, *Appl. Environ. Microbiol.* 63:532-536), mô tả nhóm protein diệt côn trùng mới gọi là Vip3. Các trình tự mang mã Vip3 mã hóa các protein có kích thước xấp xỉ 88kDa được sản sinh và tiết ra bởi *B. thuringiensis* trong suốt giai đoạn sinh dưỡng của quá trình phát triển (các protein diệt côn trùng thực vật hoặc Vip). Protein Vip3A có hoạt tính diệt côn trùng kháng phổ rộng các sinh vật gây hại bộ cánh vảy, bao gồm, nhưng không giới hạn ở, sâu xám (BCW, *Agrotis ipsilon*), sâu xanh mùa thu (FAW, *Spodoptera frugiperda*), sâu đục chồi ở cây thuốc lá (TBW, *Heliothis virescens*), và sâu đục quả bông (CEW, *Helicoverpa zea*), nhưng không có hoạt tính kháng sâu đục thân ngô châu Âu (ECB, *Ostrinia nubilalis*). Gần đây, người ta phát hiện ra rằng cây biểu hiện protein Vip3A chống lại thiệt hại lớn do côn trùng gây hại bộ cánh nửa gây ra (Patent Mỹ số 6,429,360). Do đó, protein Vip3A thể hiện phổ hoạt tính diệt côn trùng độc nhất. Công bố đơn quốc tế số WO 03/075655, WO 02/078437, WO 98/18932, WO 98/33991, WO 98/00546, và WO 99/57282, đã xác định được các thành phần khác của nhóm protein Vip3.

Một quan ngại phát sinh liên quan đến việc triển khai các cây trồng chuyển gen biểu hiện các protein diệt côn trùng là liệu côn trùng gây hại có kháng lại các protein diệt côn trùng này hay không. Trong ngành công nghiệp tạo giống, các nhà nghiên cứu ở trường đại học và Cơ quan Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ đã làm việc cùng nhau để phát triển các kế hoạch quản lý nhằm giảm bớt sự xuất hiện của tượng kháng của côn trùng. Các kế hoạch này chủ yếu dựa trên chiến lược liều cao và nơi cư trú. Chiến lược liều cao đối với sâu đục thân ngô châu Âu ở ngô, ví dụ, sử dụng ngô lai biểu hiện protein diệt côn trùng ở mức độ cao vừa đủ để gây chết sâu đục thân ngô châu Âu

kháng một phần. Giả thuyết cơ sở ở đây là gây chết ECB kháng một phần và ngăn cản việc giao phối của chúng sẽ trì hoãn rất tốt sự phát triển của tính kháng. Sự thành công của chiến lược liều cao phụ thuộc một phần vào hoạt tính đặc hiệu của protein diệt côn trùng đối với sâu đục thân ngô châu Âu và protein có thể được biểu hiện ở mức độ như thế nào trong cây ngô chuyển gen. Ví dụ, hoạt tính đặc hiệu của protein diệt côn trùng đối với sinh vật gây hại càng cao, thì lượng protein diệt côn trùng cần được biểu hiện trong thực vật chuyển gen để đạt được chiến lược liều cao càng thấp. Do đó, ví dụ, do protein Cry, Cry1Ab, rất độc đối với ấu trùng sâu đục thân ngô châu Âu (tức là hoạt tính đặc hiệu cao), các mức biểu hiện của Cry1Ab mà có thể đạt được ở các thực vật chuyển gen dễ dàng xếp ngô lai như vậy vào loại liều cao.

Do đó, vẫn còn nhu cầu tìm ra các chất kiểm soát sinh vật gây hại mới và hiệu quả mang lại lợi ích kinh tế cho người nông và dùng được cho môi trường. Cụ thể là có nhu cầu đối với các chất kiểm soát mà nhắm đến phổ rộng hơn các côn trùng gây hại quan trọng về kinh tế và có hoạt tính đặc hiệu cao kháng các côn trùng gây hại mà kháng hoặc có thể sẽ kháng các chất kiểm soát côn trùng đã biết. Ngoài ra, người ta cũng mong muốn tìm ra các chất mà việc áp dụng các chất màu giảm đến mức tối thiểu ảnh hưởng lên môi trường.

Do đó, sáng chế nhằm khắc phục các những vấn đề tồn tại nêu trên trong lĩnh vực bằng cách đề xuất các chế phẩm chứa các polypeptit Vip có hoạt tính diệt sinh vật gây hại biến đổi (ví dụ, diệt côn trùng) kháng sinh vật đích (ví dụ, côn trùng) và/hoặc mức/độ độc tố biến đổi đối với tế bào và/hoặc sinh vật cụ thể bất kỳ cũng như các phương pháp tạo ra và sử dụng các polypeptit này.

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Theo một khía cạnh, sáng chế đề xuất polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với SEQ ID NO: 1 (Vip3D) và còn bao gồm một đột biến axit amin ở vị trí tương ứng với vị trí K455 ở SEQ ID NO: 1, trong đó đột biến cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB) so với hoạt tính diệt ECB của polypeptit kiểu dại mà polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế có nguồn gốc từ đó. Theo một số khía cạnh của sáng chế, chế phẩm chứa polypeptit được thiết kế theo sáng chế

được đề xuất. Theo các khía cạnh khác, phân tử axit nucleic chứa polypeptit mã hóa trình tự nucleotit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo sáng chế được đề xuất.

Theo khía cạnh khác, sáng chế còn đề xuất tế bào chủ chuyển gen không phải của người chứa phân tử axit nucleic theo sáng chế.

Sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra polypeptit có hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu, phương pháp này bao gồm việc biểu hiện phân tử axit nucleic theo sáng chế trong tế bào chủ chuyển gen không phải của người,qua đó tạo ra polypeptit có hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu.

Sáng chế còn đề xuất phương pháp tạo ra thực vật chuyển gen kháng sinh vật gây hại, phương pháp này bao gồm việc đưa vào thực vật phân tử axit nucleic tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit của sáng chế, trong đó trình tự nucleotit này mã hóa polypeptit diệt sinh vật gây hại theo sáng chế được biểu hiện trong thực vật, nhờ đó giúp cho thực vật kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu, và tạo ra thực vật chuyển gen kháng sinh vật gây hại. Theo một vài phương án, sinh vật gây hại này là côn trùng gây hại.

Theo các phương án bổ sung của sáng chế, phương pháp kiểm soát côn trùng được đề xuất, phương pháp này bao gồm việc phân phối cho côn trùng lượng có hiệu quả của polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo sáng chế. Theo một số khía cạnh của sáng chế, côn trùng là côn trùng bộ cánh vảy. Theo các khía cạnh khác của sáng chế, côn trùng bộ cánh vảy là sâu đục thân ngô châu Âu và sâu xanh mùa thu. Theo một số khía cạnh của sáng chế, polypeptit được thiết kế theo sáng chế được phân phối cho côn trùng qua đường miệng.

Sáng chế cũng đề xuất phương pháp tạo ra polypeptit diệt sinh vật gây hại có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích, phương pháp này bao gồm: a) sắp thẳng hàng các trình tự axit amin của các polypeptit, trong đó ít nhất một trong số các polypeptit bộc lộ ít nhất hoạt tính diệt sinh vật gây hại vừa phải đối với sinh vật và/hoặc tế bào đích; b) xác định ít nhất một gốc axit amin không giống nhau giữa ít nhất hai trong số các trình tự axit amin được sắp thẳng hàng ở (a); c) thế gốc axit amin cho ít nhất một gốc axit amin được xác định trong bước (b) để tạo ra polypeptit cải biến; d) xác định mức độ hoạt tính diệt sinh vật gây hại của polypeptit cải biến được tạo ra ở bước (c) kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích; và e) chọn lọc

polypeptit cải biến ở (d) có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích, nhờ đó tạo ra polypeptit có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích. Theo một số khía cạnh của sáng chế, hoạt tính diệt sinh vật gây hại là hoạt tính diệt côn trùng và sinh vật hoặc tế bào đích là tế bào côn trùng hoặc côn trùng. Theo các khía cạnh khác của sáng chế, việc xác định ít nhất một gốc axit amin không giống nhau giữa ít nhất hai trong số các trình tự axit amin được sắp thẳng hàng bao gồm việc xác định vị trí axit amin cần thiết, vị trí axit amin hiệp đồng, vị trí axit amin hiệp đồng ẩn, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng, trong các trình tự axit amin được sắp thẳng hàng.

Các đối tượng, dấu hiệu và thuận lợi có thể rõ ràng và dễ hiểu hơn qua phần mô tả dưới đây và việc tham khảo hình vẽ kèm theo tạo thành một phần của mô tả này, hoặc ví dụ bất kỳ của các phương án theo sáng chế được đưa ra nhằm mục đích mô tả sáng chế.

Mô tả vắn tắt hình vẽ

Fig. 1 thể hiện vectơ 12225 hữu dụng cho biến nạp polynucleotit theo sáng chế vào thực vật.

Mô tả chi tiết sáng chế

Mô tả vắn tắt các trình tự trong danh mục trình tự

SEQ ID NO:1 là trình tự axit amin của Vip3D.

SEQ ID NO:2 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:1 (Vip3D).

SEQ ID NO:3 là trình tự axit amin của đột biến K455A của polypeptit Vip3D (Vip3E).

SEQ ID NO:4 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:3.

SEQ ID NO:5 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến V338A.

SEQ ID NO:6 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:5.

SEQ ID NO:7 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến V768A.

SEQ ID NO:8 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:7.

SEQ ID NO:9 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến I544A.

SEQ ID NO:10 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO: 9.

SEQ ID NO:11 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến E760A.

SEQ ID NO:12 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:11.

SEQ ID NO:13 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S712A.

SEQ ID NO:14 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO: 13.

SEQ ID NO:15 là trình tự axit amin của Vip3A.

SEQ ID NO:16 là trình tự axit amin của Vip3B.

SEQ ID NO:17 là trình tự axit amin của Vip3C.

SEQ ID NO:18 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến R465A.

SEQ ID NO:19 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:18.

SEQ ID NO:20 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S532A.

SEQ ID NO:21 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:20.

SEQ ID NO:22 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến G580A.

SEQ ID NO:23 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:22.

SEQ ID NO:24 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến L766A.

SEQ ID NO:25 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:24.

SEQ ID NO:26 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến D471A.

SEQ ID NO:27 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:26.

SEQ ID NO:28 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến Q495A.

SEQ ID NO:29 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:28.

SEQ ID NO:30 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến R501A.

SEQ ID NO:31 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:30.

SEQ ID NO:32 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S543A.

SEQ ID NO:33 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:32.

SEQ ID NO:34 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến P591A.

SEQ ID NO:35 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:34.

SEQ ID NO:36 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến P605A.

SEQ ID NO:37 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:36.

SEQ ID NO:38 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến H608A.

SEQ ID NO:39 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:38.

SEQ ID NO:40 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến Y616A.

SEQ ID NO:41 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:40.

SEQ ID NO:42 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến I617A.

SEQ ID NO:43 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:42.

SEQ ID NO:44 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến H618A.

SEQ ID NO:45 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:44.

SEQ ID NO:46 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến R635A.

SEQ ID NO:47 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:46.

SEQ ID NO:48 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến K643A.

SEQ ID NO:49 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:48.

SEQ ID NO:50 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến W658A.

SEQ ID NO:51 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:50.

SEQ ID NO:52 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến P681A.

SEQ ID NO:53 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:52.

SEQ ID NO:54 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến I753A.

SEQ ID NO:55 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:54.

SEQ ID NO:56 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S774A.

SEQ ID NO:57 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:56.

SEQ ID NO:58 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến G775A.

SEQ ID NO:59 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:58.

SEQ ID NO:60 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến H779A.

SEQ ID NO:61 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:60.

SEQ ID NO:62 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến L514A.

SEQ ID NO:63 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:62.

SEQ ID NO:64 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến E546A.

SEQ ID NO:65 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:64.

SEQ ID NO:66 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến T614A.

SEQ ID NO:67 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:66.

SEQ ID NO:68 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến T724A.

SEQ ID NO:69 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:68.

SEQ ID NO:70 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến T743A.

SEQ ID NO:71 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:70.

SEQ ID NO:72 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S744A.

SEQ ID NO:73 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:72.

SEQ ID NO:74 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến T756A.

SEQ ID NO:75 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:74.

SEQ ID NO:76 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S761A.

SEQ ID NO:77 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:76.

SEQ ID NO:78 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến T764A.

SEQ ID NO:79 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:78.

SEQ ID NO:80 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến G778A.

SEQ ID NO:81 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:80.

SEQ ID NO:82 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến V785A.

SEQ ID NO:83 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:82.

SEQ ID NO:84 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến M362A.

SEQ ID NO:85 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:84.

SEQ ID NO:86 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến L494A.

SEQ ID NO:87 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:86.

SEQ ID NO:88 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến I503A.

SEQ ID NO:89 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:88.

SEQ ID NO:90 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến T600A.

SEQ ID NO:91 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:90.

SEQ ID NO:92 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến N625A.

SEQ ID NO:93 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:92.

SEQ ID NO:94 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến Y629A.

SEQ ID NO:95 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:94.

SEQ ID NO:96 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến K650A.

SEQ ID NO:97 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:96.

SEQ ID NO:98 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến N682A.

SEQ ID NO:99 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:98.

SEQ ID NO:100 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S683A.

SEQ ID NO:101 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:100.

SEQ ID NO:102 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến L701A.

SEQ ID NO:103 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:102.

SEQ ID NO:104 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến M747A.

SEQ ID NO:105 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:104.

SEQ ID NO:106 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến R773A.

SEQ ID NO:107 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:106.

SEQ ID NO:108 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến V372A.

SEQ ID NO:109 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:108.

SEQ ID NO:110 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến G689.

SEQ ID NO:111 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:110.

SEQ ID NO:112 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến F400A.

SEQ ID NO:113 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:112.

SEQ ID NO:114 là trình tự axit amin đặc hiệu Vip3 bao gồm trong tín hiệu tiết chế đầu N được bảo tồn cao.

SEQ ID NO:115 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến I544A/S712A.

SEQ ID NO:116 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:115.

SEQ ID NO:117 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến K455A/V338A.

SEQ ID NO:118 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:117.

SEQ ID NO:119 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến H618A/T750A.

SEQ ID NO:120 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:119.

SEQ ID NO:121 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến L701A/I721A.

SEQ ID NO:122 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:121.

SEQ ID NO:123 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S722A/S781A.

SEQ ID NO:124 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:123.

SEQ ID NO:125 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S761A/S744A.

SEQ ID NO:126 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:125.

SEQ ID NO:127 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S781A/S744A.

SEQ ID NO:128 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:127.

SEQ ID NO:129 là trình tự axit amin của polypeptit Vip3D đột biến S781A/T750A.

SEQ ID NO:130 là trình tự nucleotit mã hóa SEQ ID NO:129.

Các SEQ ID NO:131-252 là các đoạn mồi X_1cgcX_2 hữu dụng để tạo ra sự thay thế alanin.

Các SEQ ID NO:253-340 là các đoạn mồi hữu dụng để biến đổi vị trí thứ nhất và/hoặc thứ hai của các codon *vip3* đột biến để tạo ra sự thay thế alanin.

Các SEQ ID NO:341-452 là các đoạn mồi hữu dụng để tạo ra các đột biến bện.

SEQ ID NO:453 là epitop axit amin mã hóa vectơ gây đột biến trực tiếp tại chỗ hữu dụng theo sáng chế.

SEQ ID NO: 454 là trình tự nucleotit tối ưu ngô mã hóa Vip3E (đột biến K455A).

SEQ ID NO: 455 là trình tự axit amin của polypeptit Cry2Aa.

SEQ ID NO: 456 là trình tự axit amin của polypeptit Cry2Ab.

SEQ ID NO: 457 là trình tự axit amin của polypeptit Cry2Ac.

Sáng chế đề cập đến việc cải biến các polypeptit Vip, phương pháp cải biến các polypeptit Vip để làm tăng hoạt tính diệt sinh vật gây hại, ví dụ hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng sinh vật gây hại được chọn lọc (ví dụ, các côn trùng gây hại), và việc tạo ra và sử dụng các polypeptit để kiểm soát các sinh vật gây hại này. Cụ thể là, các polypeptit Vip3 được cải biến, hữu dụng là các chất diệt sinh vật gây hại, được đề xuất.

Bản mô tả này không nhằm mô tả chi tiết các cách khác nhau để thực hiện sáng chế, hoặc mô tả tất cả các dấu hiệu có thể được bổ sung vào sáng chế. Ví dụ, các dấu hiệu được minh họa theo một phương án có thể được kết hợp vào các phương án khác, và các dấu hiệu được minh họa theo phương án cụ thể có thể được loại bỏ khỏi phương án này. Do đó, sáng chế dự tính rằng theo một vài phương án của sáng chế, dấu hiệu bất kỳ hoặc kết hợp các dấu hiệu được đề cập ở đây có thể được loại trừ hoặc bỏ qua. Ngoài ra, nhiều biến thể và bổ sung cho các phương án khác nhau được khuyến khích ở đây sẽ được thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực của sáng chế này, mà không vượt ra khỏi phạm vi sáng chế. Vì vậy, các mô tả sau đây nhằm minh họa một số phương án cụ thể của sáng chế, và không cụ thể hóa một cách chi tiết tất cả sắp xếp, kết hợp và biến thể của các phương án này.

Trừ khi có quy định khác, toàn bộ các thuật ngữ kỹ thuật và khoa học được sử dụng ở đây có cùng nghĩa như cách hiểu thông thường của những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đối mà sáng chế thuộc về. Thuật ngữ được sử dụng trong

phần mô tả của sáng chế này nhằm mục đích mô tả các phương án cụ thể và không nhằm giới hạn sáng chế.

Tất cả công bố và đơn sáng chế được đề cập trong bản mô tả này được trình bày ở mức độ phù hợp với kỹ năng của những người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực gắn liền với sáng chế.

Như được sử dụng trong phần mô tả các phương án theo sáng chế và yêu cầu bảo hộ kèm theo, các mạo từ dạng số ít được sử dụng cũng nhằm bao hàm cả các dạng số nhiều, trừ khi nội dung chỉ dẫn khác đi một cách rõ ràng.

Như được sử dụng ở đây, "và/hoặc" dùng để chỉ và bao hàm bất kỳ và tất cả các kết hợp có thể của một hoặc nhiều mục liệt kê được kết hợp.

Thuật ngữ "khoảng", như được sử dụng ở đây khi đề cập đến các giá trị đo được như lượng của hợp chất, liều dùng, thời gian, nhiệt độ, và tương tự, nghĩa là bao gồm các biến thể của 20%, 10%, 5%, 1%, 0,5%, hoặc thậm chí 0,1% lượng cụ thể.

Thuật ngữ "bao gồm" và/hoặc "gồm", khi được sử dụng trong bản mô tả này, cụ thể hóa sự có mặt của các dấu hiệu, tổng thể, các bước, hoạt động, đơn vị, và/hoặc thành phần được đề cập, nhưng không có mặt hoặc bổ sung một hoặc nhiều dấu hiệu, tổng thể, các bước, hoạt động, đơn vị, thành phần, và/hoặc nhóm khác của chúng.

Như được sử dụng ở đây, cụm chuyển tiếp "chủ yếu chứa" (và các biến thể ngữ pháp) nghĩa là phạm vi yêu cầu bảo hộ là để giải thích bao gồm các vật liệu cụ thể hoặc các bước được đề cập lại trong yêu cầu bảo hộ" và không cải biến đáng kể (các) đặc tính cơ bản và mới" của sáng chế yêu cầu bảo hộ. Do đó, thuật ngữ "chủ yếu chứa" khi sử dụng trong yêu cầu bảo hộ của sáng chế không nhằm để giải thích sự tương đương với "bao gồm".

"Hoạt tính" của các polypeptit Vip3 theo sáng chế nghĩa là chức năng của polypeptit Vip3 là chất kiểm soát có hoạt tính sinh học. Do đó, ví dụ, khi đóng vai trò là chất diệt côn trùng, polypeptit Vip3 theo sáng chế đóng vai trò làm chất kiểm soát côn trùng có hoạt tính qua đường miệng, có tác dụng độc, và/hoặc có thể phá vỡ hoặc làm giảm sự lớn lên của côn trùng, mà có thể hoặc không thể làm chết côn trùng. Khi polypeptit Vip3 theo sáng chế được phân phối cho côn trùng, kết quả thường là côn trùng chết, hoặc côn trùng ngừng ăn khi ăn nguồn thức ăn chứa polypeptit Vip3.

Thuật ngữ "cải biến", "làm cả biến" và/hoặc "sự cả biến" (và các biến thể ngữ pháp của chúng) như được sử dụng ở đây liên quan đến các polypeptit Vip và các polynucleotit mã hóa các polypeptit Vip đề cập đến việc biến đổi axit amin Vip và polynucleotit kiểu dại hoặc tham khảo sao cho độc tố của các polypeptit được tạo ra từ axit amin và polynucleotit cải biến biến đổi so với độc tố của axit amin Vip và polynucleotit kiểu dại hoặc tham khảo. Các cải biến cụ thể đối với trình tự axit amin được đánh dấu bằng cách chỉ rõ ký tự đơn đối với axit amin được cải biến, vị trí cải biến và mã ký tự đơn để thay thế axit amin. Ví dụ, "V338A" nghĩa là valin ở vị trí 338 được thay thế bằng alanin. "Sự biến đổi về tính độc" của polypeptit Vip bao gồm, nhưng không giới hạn ở, làm tăng và/hoặc giảm tính độc như liên quan đến sinh vật đích cụ thể bất kỳ và/hoặc biến đổi về (các) sinh vật được nhắm đến.

Như được sử dụng ở đây, "liên kết hoạt động", khi đề cập đến trình tự axit nucleic thứ nhất liên kết hoạt động với trình tự axit nucleic thứ hai, nghĩa là tình huống khi trình tự axit nucleic thứ nhất nằm trong mối quan hệ chức năng với trình tự axit nucleic thứ hai. Ví dụ, promotơ liên kết hoạt động với trình tự mã hóa nếu promotơ ảnh hưởng đến phiên mã hoặc biểu hiện của trình tự mã hóa. Ví dụ, đối với yếu tố tăng cường phiên mã, các trình tự axit nucleic liên kết hoạt động có thể là liền kề hoặc chúng có thể xa nhau, .

"Gen khảm" là phân tử axit nucleic tái tổ hợp trong đó promotơ hoặc polynucleotit điều hòa liên kết hoạt động với polynucleotit mã hóa mARN hoặc được biểu hiện là polypeptit, sao cho polynucleotit điều hòa có thể điều hòa phiên mã hoặc biểu hiện của polynucleotit liên kết mã hóa mARN hoặc được biểu hiện là polypeptit. Polynucleotit điều hòa của gen khảm không thường liên kết hoạt động với polynucleotit liên hợp mã hóa mARN hoặc được biểu hiện là polypeptit như được tìm thấy trong tự nhiên.

"Trình tự mã hóa" là polynucleotit được phiên mã thành axit ribonucleic (ARN) như pre-ARN, mARN, rARN, tARN, snARN, ARN có nghĩa hoặc ARN đối nghĩa. Theo một vài phương án, sau đó ARN được dịch mã trong sinh vật hoặc tế bào để tạo ra protein.

"Kiểm soát" sinh vật (ví dụ, côn trùng gây hại) nghĩa là ức chế, thông qua tác dụng gây độc, khả năng của sinh vật (ví dụ, côn trùng gây hại) để sống sót, sinh

trưởng, sinh sôi, và/hoặc sinh sản, hoặc làm giảm thiệt hại hoặc mất mát về cây trồng liên quan đến hoạt động của sinh vật. "Kiểm soát" sinh vật có thể có nghĩa hoặc có thể không có nghĩa là gây chết sinh vật, mặc dù tốt hơn nếu có nghĩa là gây chết sinh vật.

"Tương ứng với" trong ngữ cảnh của sáng chế nghĩa là khi các trình tự axit amin của các polypeptit Vip3 biến thể, hoặc là kiểu dại hoặc được thiết kế, được sắp thẳng hàng với trình tự axit amin Vip3 tham chiếu, các axit amin của các polypeptit Vip3 biến thể sắp hàng với một số vị trí axit amin được đánh số của trình tự axit amin Vip3 tham chiếu, nhưng không cần các vị trí đánh số chính xác so với trình tự axit amin Vip3 biến thể, axit amin trong biến thể "tương ứng với" vị trí đó trong trình tự axit amin tham chiếu. Ví dụ, không giới hạn, khi trình tự axit amin Vip3A (SEQ ID NO: 15) thẳng hàng với trình tự axit amin Vip3D viện dẫn (SEQ ID NO: 1), serin (S) ở vị trí axit amin 753 và axit glutamic (E) ở vị trí 754 của SEQ ID NO: 15 thẳng hàng với serin (S) ở vị trí axit amin 754 và glyxin (G) ở vị trí axit amin 755 của SEQ ID NO: 1. Do đó, S753 và E754 của Vip3A (SEQ ID NO: 15) "tương ứng với" S754 và G755, lần lượt, của Vip3D (SEQ ID NO: 1). Trong ví dụ không giới hạn khác, khi trình tự axit amin Cry2Ac (SEQ ID NO:457) thẳng hàng với trình tự axit amin Cry2Aa viện dẫn (SEQ ID NO:455), arginin ở vị trí axit amin 517 của SEQ ID NO:457 được sắp thẳng hàng với glutamin ở vị trí axit amin 527 của SEQ ID NO:455. Do đó, R517 của Cry2Ac (SEQ ID NO:457) tương ứng với Q527 của Cry2Aa (SEQ ID NO:455).

Như được sử dụng ở đây "diệt sinh vật gây hại", diệt côn trùng", "diệt giun tròn", và tương tự, đề cập đến khả năng của polypeptit Vip (ví dụ, polypeptit Vip3) để kiểm soát sinh vật gây hại hoặc lượng polypeptit Vip (ví dụ, polypeptit Vip3) có thể kiểm soát sinh vật gây hại như được xác định ở đây. Do đó, polypeptit diệt sinh vật gây hại Vip (ví dụ, polypeptit Vip3) có thể gây chết hoặc ức chế khả năng của sinh vật gây hại (ví dụ, côn trùng gây hại) sống sót, tăng trưởng, sinh sôi, và/hoặc sinh sản.

Đối với các mục đích của một số phương án theo sáng chế, các côn trùng gây hại bao gồm, nhưng không giới hạn ở, côn trùng được chọn từ các bộ trong số bộ cánh cứng, bộ hai cánh, bộ cánh màng, bộ cánh vảy, bộ cánh giống, bộ cánh nửa, bộ cánh thẳng, bộ cánh viền, bộ hai cánh màng, bộ mối, bộ chấy rận, bộ bọ chét, bộ cánh lông, và tương tự. Theo một số khía cạnh của sáng chế, các côn trùng gây hại được chọn từ bộ cánh vảy. Côn trùng bộ cánh vảy này bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu), *Plutella xylostella* (sâu tơ), *Spodoptera*

frugiperda (sâu xanh mùa thu), *Agrotis ipsilon* (sâu xám), *Helicoverpa zea* (sâu đục quả bông), *Heliothis virescens* (sâu đục chồi ở cây thuốc lá), *Spodoptera exigua* (sâu xanh da láng), *Diatraea grandiosella* (sâu đục thân ngô Tây Nam), *Diatraea saccharalis* (sâu đục thân mía), *Trichoplusia ni* (sâu đo trên cải bắp), *Sesamia nonagroides* (sâu đục thân ngô Địa Trung Hải), *Pectinophora gossypiella* (sâu đục quả màu hồng), *Cochylis hospes* (sâu bướm hại hướng dương có viền lưng), *Helicoverpa punctigera* (sâu đục chồi tự nhiên), *Helicoverpa armigera* (sâu đục quả bông), và/hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo các khía cạnh khác của sáng chế, các ví dụ không giới hạn về sinh vật gây hại là giun tròn bao gồm Criconemella, Ditylenchus, Globodera, Helicotylenchus, Heterodera, Longidorus, Meloidogyne, Paratrichodorus, Pratylenchus, Radolpholus, Rotelynchus, Rotylenchulus, Tylenchulus, Xiphinema và/hoặc kết hợp bất kỳ của chúng. Theo các phương án cụ thể, sinh vật gây hại là giun tròn bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, *Meloidogyne* spp. (ví dụ, *Meloidogyne incoginita* và *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne arenari*), *Heterodera* spp. (ví dụ, *Heterodera glyxins*, *Heterodera carotae*, *Heterodera schachtii*, *Heterodora avenae* và *Heterodora trifolii*), *Globodera* spp. (ví dụ, *Globodera rostochiensis*), *Radopholus* spp. (ví dụ, *Radopholus similes*), *Rotylenchulus* spp., *Pratylenchus* spp. (ví dụ, *Pratylenchus neglectans* và *Pratylenchus penetrans*), *Aphelenchoides* spp., *Helicotylenchus* spp., *Hoplolaimus* spp., *Paratrichodorus* spp., *Longidorus* spp., *Nacobbus* spp., *Subanguina* spp. *Belonlaimus* spp., *Criconemella* spp., *Criconemoides* spp. *Ditylenchus* spp., *Ditylenchus dipsaci*, *Dolichodorus* spp., *Hemicriconemoides* spp., *Hemicycliophora* spp., *Hirschmaniella* spp., *Hypsoperine* spp., *Macroposthonia* spp., *Melinius* spp., *Punctodera* spp., *Quinisulcius* spp., *Scutellonema* spp., *Xiphinema* spp., *Tylenchorhynchus* spp. và/hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

"Lượng kiểm soát sinh vật gây hại hiệu quả",, "lượng kiểm soát côn trùng hiệu quả" hoặc "lượng kiểm soát giun tròn hiệu quả" nghĩa là nồng độ hoặc lượng polypeptit ức chế, thông qua tác dụng gây độc, khả năng của sinh vật gây hại, côn trùng và/hoặc giun tròn, lần lượt, để sống sót, tăng trưởng, sinh sôi và/hoặc sinh sản, hoặc để hạn chế các thiệt hại hoặc mất mát liên quan đến sinh vật gây hại, côn trùng và/hoặc giun tròn ở cây trồng. "Lượng kiểm soát sinh vật gây hại hiệu quả", "lượng kiểm soát côn trùng hiệu quả" hoặc "lượng kiểm soát giun tròn hiệu quả" có thể có

nghĩa hoặc có thể không có nghĩa là gây chết sinh vật gây hại, côn trùng và/hoặc giun tròn, lần lượt, mặc dù tốt hơn là có nghĩa là gây chết sinh vật gây hại, côn trùng và/hoặc giun tròn.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "gen" dùng để chỉ phân tử axit nucleic có khả năng được dùng để tạo ra mARN hoặc ARN đối nghĩa. Các gen có thể có hoặc có thể không có khả năng được dùng để tạo ra protein chức năng. Các gen có thể bao gồm cả vùng mã hóa và không mã hóa (ví dụ, intron, nhân tố điều hòa, promotơ, yếu tố tăng cường, trình tự kết thúc và vùng không dịch mã 5' và 3'). Gen có thể "được phân lập" nhờ đó nghĩa là axit nucleic cơ bản hoặc chủ yếu không có các thành phần thường thấy liên quan đến axit nucleic trong trạng thái tự nhiên của nó. Các thành phần này bao gồm vật liệu tế bào, môi trường nuôi cấy khác từ sản xuất tái tổ hợp, và/hoặc các chất hóa học khác nhau được dùng trong tổng hợp hóa học axit nucleic.

"Polynucleotit quan tâm" dùng để chỉ polynucleotit bất kỳ mà, khi truyền cho cây, đem lại cho cây trồng đặc tính mong muốn như kháng thuốc kháng sinh, kháng virut, kháng côn trùng, kháng bệnh, hoặc kháng sinh vật gây hại khác, kháng chất diệt cỏ, tăng giá trị dinh dưỡng, tăng năng suất chế biến công nghiệp hoặc cải biến khả năng sinh sản. "Polynucleotit quan tâm" có thể còn là loại mà được truyền cho cây để tạo ra các enzym hoặc các chất chuyển hóa có giá trị kinh tế ở cây trồng.

"Polynucleotit khác loại" là polynucleotit không liên kết tự nhiên với tế bào chủ mà nó được đưa vào, bao gồm nhiều bản sao không có trong tự nhiên của polynucleotit có trong tự nhiên.

Axit nucleic, trình tự nucleotit, polynucleotit, polypeptit hoặc trình tự axit amin "kiểu dại" dùng để chỉ axit nucleic, trình tự nucleotit, polynucleotit, polypeptit hoặc trình tự axit amin có trong tự nhiên ("tự nhiên") hoặc nội sinh. Do đó, ví dụ, "mARN kiểu dại" là mARN mà có tự nhiên trong hoặc nội sinh đối với sinh vật. "Polynucleotit khác loại" là polynucleotit liên kết tự nhiên với tế bào chủ mà nó được đưa vào.

"Sự tái tổ hợp tương đồng" là trao đổi thuận nghịch của các đoạn axit nucleic giữa các phân tử axit nucleic tương đồng.

"Độc tố lai" như được sử dụng ở đây là độc tố diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) được tạo nhờ bàn tay con người mà bao gồm các vùng hoặc đoạn axit amin của một độc tố liên kết với các vùng hoặc đoạn axit amin từ độc tố khác.

Trình tự axit nucleic là "đồng mã hóa với" trình tự axit nucleic tham chiếu khi trình tự axit nucleic mã hóa polypeptit có trình tự axit amin giống như polypeptit được mã hóa bởi trình tự axit nucleic tham chiếu.

"Polypeptit Vip3 cải thiện" là polypeptit Vip3 đột biến, khi so với polypeptit Vip3 bố mẹ kiểu dại của nó, thể hiện một hoặc nhiều đặc tính sau: 1) khả năng kháng côn trùng đích tăng (hoạt tính đặc hiệu cao hơn) hoặc tỷ lệ gây chết tăng (gây chết nhanh hơn ở mức protein so sánh); 2) tăng hoặc giảm phổ sinh vật gây hại đích; 3) tăng nhạy cảm đối với phát triển đề kháng bởi sinh vật gây hại đích; 4) tăng các mức biểu hiện trong vật chủ chuyển gen hoặc tế bào chủ; 5) tăng tính kháng đối với sự phân hủy proteaza ở côn trùng (tăng sự ổn định trong ruột của côn trùng đích); 6) tăng sự ổn định về môi trường; và 7) giảm tính độc đối với côn trùng có lợi, sinh vật gây hại không phải là đích, và thực vật.

Trong ngữ cảnh của sáng chế, "cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng, diệt giun tròn)" hoặc "tăng hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng, diệt giun tròn)", hoặc biến thể cấu trúc bất kỳ của chúng, nghĩa là đột biến theo sáng chế tạo ra polypeptit được thiết kế theo sáng chế có một hoặc nhiều đặc tính sau đây: 1) khả năng kháng côn trùng đích tăng (ví dụ, côn trùng và/hoặc giun tròn) (có nghĩa là, hoạt tính đặc hiệu cao hơn) hoặc tỷ lệ gây chết tăng (gây chết nhanh hơn ở mức protein so sánh), 2) tăng hoặc giảm phổ sinh vật gây hại đích, 3) tăng nhạy cảm đối với phát triển đề kháng bởi sinh vật gây hại đích, 4) tăng các mức biểu hiện trong vật chủ chuyển gen hoặc tế bào chủ, 5) tăng thoái hóa proteaza ở côn trùng kháng (tăng sự ổn định trong ruột của côn trùng đích), 6) tăng sự ổn định về môi trường và 7) giảm độc tính đối với côn trùng có lợi, sinh vật gây không phải là đích, và thực vật.

Phân tử axit nucleic "được phân lập" hoặc polypeptit "được phân lập" là phân tử axit nucleic hoặc polypeptit mà, nhờ bàn tay con người, tồn tại ngoài môi trường tự nhiên của nó và do dó không phải là sản phẩm của tự nhiên. Phân tử axit nucleic được phân lập hoặc polypeptit được phân lập có thể tồn tại ở dạng tinh chế hoặc có thể tồn tại ở môi trường không tự nhiên như, ví dụ, tế bào chủ tái tổ hợp. Do đó, ví dụ, đối với các polynucleotit, thuật ngữ được phân lập nghĩa là nó được chia tách từ nhiễm sắc thể và/hoặc tế bào trong đó nó xảy ra tự nhiên. Polynucleotit còn được phân lập nếu được chia tách từ nhiễm sắc thể và/hoặc tế bào trong đó chúng xảy ra tự nhiên và sau đó được đưa vào bối cảnh gen, nhiễm sắc thể và/hoặc tế bào trong đó chúng không xảy ra

tự nhiên. Polypeptit được thiết kế, trình tự nucleotit mã hóa polypeptit được thiết kế, và phân tử axit nucleic tái tổ hợp theo sáng chế có thể được xem là "được phân lập" như xác định ở trên, bao gồm khi chứa trong thực vật chuyển gen hoặc tế bào thực vật chuyển gen.

"Phân tử axit nucleic", "trình tự axit nucleic", "polynucleotit" hoặc "trình tự nucleotit" là đoạn ADN hoặc ARN mạch thẳng sợi đơn hoặc sợi kép mà có thể được phân lập từ nguồn bất kỳ.

"Nhân tố điều hòa" dùng để chỉ các trình tự tham gia vào việc kiểm soát sự biểu hiện của polynucleotit. Do đó, ví dụ, nhân tố điều hòa có thể bao gồm promotơ liên kết hoạt động với polynucleotit quan tâm và các tín hiệu kết thúc. Phần tử điều chỉnh còn thường bao hàm các trình tự cần thiết để dịch mã chính xác polynucleotit.

Axit nucleic "xáo trộn" là axit nucleic được tạo ra bởi quá trình xáo trộn như quá trình xáo trộn bất kỳ được đề cập ở đây. Các axit nucleic xáo trộn được tạo ra bằng cách tái tổ hợp (cơ học hoặc bằng mô hình) hai hoặc nhiều axit nucleic (hoặc các sợi đặc tính), ví dụ, theo cách nhân tạo, và tùy ý theo cách đệ quy. Nói chung, một hoặc nhiều bước sàng được sử dụng trong quy trình xáo trộn để xác định các polynucleotit quan tâm; bước sàng này có thể được thực hiện trước hoặc sau bước tái tổ hợp bất kỳ. Theo một số (nhưng không phải là tất cả) phương án sắp xáo trộn, mong muốn là thực hiện nhiều vòng tái tổ hợp trước khi chọn lọc để làm tăng tính đa dạng của tập hợp được sàng. Toàn bộ quy trình tái tổ hợp và chọn lọc được lặp lại tùy ý theo cách đệ quy. Tùy thuộc ngữ cảnh, sự sắp xáo trộn có thể đề cập đến toàn bộ quy trình tái tổ hợp và chọn lọc, hoặc, tùy ý, có thể đơn giản đề cập đến phần tái tổ hợp của quy trình tổng thể.

Như được sử dụng ở đây, "hoạt tính đặc hiệu" dùng để chỉ lượng protein cần để có tác dụng diệt côn trùng. Do đó, khi protein thứ nhất có hoạt tính đặc hiệu cao hơn protein thứ hai thì sẽ cần lượng ít hơn protein thứ nhất so với protein thứ hai để có tác dụng diệt côn trùng cho cùng phần trăm côn trùng được phơi nhiễm. Một cách đo hoạt tính đặc hiệu là nồng độ polypeptit gây chết cần để gây chết 50% côn trùng phơi nhiễm (có nghĩa là LC50). Polypeptit thứ nhất có LC50 thấp hơn polypeptit thứ hai có hoạt tính đặc hiệu cao hơn polypeptit thứ hai.

Axit nucleic hoặc các polypeptit khác nhau có tính tương đồng được đề cập ở đây là "tương đồng". Thuật ngữ tương đồng bao gồm các trình tự tương đồng từ cùng loài và khác loài và các trình tự tiến hóa thẳng từ cùng loài và khác loài. "Tính tương đồng" dùng để chỉ mức độ tương tự giữa hai hoặc nhiều axit nucleic và/hoặc trình tự axit amin về phần trăm đồng nhất vị trí (có nghĩa là, sự tương tự hoặc đồng nhất về trình tự). Tính tương đồng còn đề cập đến khái niệm đặc tính chức năng tương tự giữa các axit nucleic hoặc protein khác nhau.

Như được sử dụng ở đây "đồng nhất về trình tự" dùng để chỉ sự mở rộng đến hai trình tự polynucleotit hoặc peptit được sắp thẳng hàng tối ưu không cải biến trong cửa sổ sắp thẳng hàng của các thành phần, ví dụ, nucleotit hoặc axit amin. "Độ đồng nhất" có thể đã được tính toán bằng phương pháp đã biết bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các phương pháp được mô tả trong: *Computational Molecular Biology* (Lesk, A. M., ed.) Oxford University Press, New York (1988); *Biocomputing: Informatics and Genome Projects* (Smith, D. W., ed.) Academic Press, New York (1993); *Computer Analysis of Sequence Data, Part I* (Griffin, A. M., và Griffin, H. G., eds.) Humana Press, New Jersey (1994); *Sequence Analysis in Molecular Biology* (von Heinje, G., ed.) Academic Press (1987); và *Sequence Analysis Primer* (Gribskov, M. và Devereux, J., eds.) Stockton Press, New York (1991).

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "phần trăm đồng nhất về trình tự" hoặc "phần trăm đồng nhất" dùng để chỉ tỷ lệ phần trăm của nucleotit tương đồng trong trình tự nucleotit thẳng của polynucleotit tham chiếu ("truy vấn") (hoặc sợi bổ sung của nó) so với polynucleotit thí nghiệm ("đối tượng") (hoặc sợi bổ sung của nó) khi hai trình tự thẳng hàng tối ưu (có sự chèn, xóa, hoặc khoảng trống nucleotit thích hợp tổng cộng ít hơn 20 phần trăm trình tự tham chiếu qua cửa sổ so sánh). Theo một vài phương án, "phần trăm đồng nhất" có thể đề cập đến phần trăm các axit amin đồng nhất trong trình tự axit amin.

Như được sử dụng ở đây, cụm từ "cơ bản đồng nhất", trong ngữ cảnh hai trình tự axit nucleic hoặc protein, đề cập đến hai hoặc nhiều trình tự hoặc trình tự phụ có độ đồng nhất ít nhất 60%, ít nhất 70%, ít nhất 75%, ít nhất 80%, ít nhất 85%, ít nhất 90%, ít nhất 95%, hoặc ít nhất 99% về gốc nucleotit hoặc axit amin, khi được so sánh và sắp thẳng hàng tương ứng cực đại, khi được đánh giá bằng cách dùng một trong các thuật toán so sánh trình tự sau hoặc kiểm tra bằng mắt. Theo một vài phương án theo sáng

chế, hầu như đồng nhất tồn tại trên vùng trình tự có ít nhất khoảng 50 gốc đến khoảng 150 gốc theo chiều dài. Do đó, theo một vài phương án của sáng chế, hầu như đồng nhất tồn tại trên vùng trình tự có ít nhất khoảng 50, khoảng 60, khoảng 70, khoảng 80, khoảng 90, khoảng 100, khoảng 110, khoảng 120, khoảng 130, khoảng 140, khoảng 150, hoặc nhiều hơn gốc theo chiều dài. Theo một vài phương án cụ thể, các trình tự là hầu như đồng nhất trên ít nhất khoảng 150 gốc. Theo phương án khác, các trình tự hầu như đồng nhất trên toàn bộ chiều dài của vùng mã hóa. Ngoài ra, các trình tự axit nucleic hoặc protein hầu như đồng nhất cơ bản thực hiện cùng chức năng.

Để so sánh trình tự, điển hình là một trình tự đóng vai trò như trình tự tham chiếu mà trình tự kiểm tra được so sánh với nó. Khi dùng thuật toán so sánh trình tự, các trình tự kiểm tra và tham chiếu được nhập vào máy tính, sau đó các hệ tọa độ được chỉ định nếu cần và các thông số của chương trình thuật toán trình tự được chỉ định. Thuật toán so sánh trình tự sau đó sẽ tính toán phần trăm tương đồng trình tự của (các) trình tự thử so với trình tự tham chiếu, dựa trên các thông số chương trình được chỉ định.

Sắp thẳng hàng tối ưu các trình tự để sắp thẳng hàng cửa sổ so sánh là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và có thể được thực hiện bằng các công cụ như thuật toán tương đồng cục bộ của Smith và Waterman, thuật toán sắp hàng tương đồng của Needleman và Wunsch, phương pháp tìm kiếm nét tương tự của Pearson và Lipman, và tùy ý bằng cách tiến hành trên máy tính các thuật toán này như GAP, BESTFIT, FASTA, và TFASTA là một phần của GCG® Wisconsin Package® (Accelrys Inc., San Diego, CA). "Đoạn đồng nhất" đối với các đoạn được sắp thẳng hàng của trình tự thử và trình tự tham chiếu là số các thành phần đồng nhất mà được có chung hai các trình tự thẳng hàng được chia cho tổng số thành phần trong đoạn trình tự tham chiếu, ví dụ, toàn bộ trình tự tham chiếu hoặc phần xác định nhỏ hơn của trình tự tham chiếu. Phần trăm đồng nhất trình tự được thể hiện là đoạn đồng nhất được nhân 100 lần. So sánh một hoặc nhiều trình tự nucleotit có thể với trình tự nucleotit chiều dài đầy đủ hoặc một phần của nó, hoặc với trình tự nucleotit dài hơn. Đối với mục đích của sáng chế "phần trăm đồng nhất" còn có thể được xác định bằng cách sử dụng BLASTX phiên bản 2.0 để dịch mã các trình tự nucleotit và BLASTN phiên bản 2.0 cho các trình tự nucleotit.

Phần mềm thực hiện phân tích BLAST được công bố rộng rãi qua Trung tâm Quốc gia về Thông tin Công nghệ Sinh học (National Center for Biotechnology

Information). Thuật toán này lưu tâm đến các cặp trình tự có điểm đồng nhất cao đầu tiên (các HSP) bởi các từ ngắn đồng nhất có chiều dài W trong trình tự truy vấn mà chúng hoặc là tương xứng, hoặc là thỏa mãn điểm ngưỡng T nào đó được đánh giá dương khi được sắp thẳng hàng với từ có cùng chiều dài trong trình tự cơ sở dữ liệu. T được tham chiếu làm ngưỡng điểm của từ lân cận (Altschul *et al.,* 1990). Các tương hợp từ lân cận khởi đầu này có tác dụng như hạt giống để bắt đầu tìm kiếm các HSP dài hơn có chứa chúng. Các tương hợp từ này sau đó được mở rộng theo cả hai hướng dọc theo mỗi trình tự xa tới mức điểm sắp thẳng hàng tích lũy có thể tăng lên. Các điểm tích lũy được tính toán khi dùng, đối với các trình tự nucleotit, các thông sốM (điểm thưởng cho cặp có các gốc tương xứng; luôn > 0) và N (điểm phạt cho các gốc không tương xứng; luôn < 0). Đối với các trình tự axit amin, ma trận điểm được dùng để tính toán điểm tích lũy. Việc mở rộng các tương hợp từ theo mỗi hướng tạm dừng lại khi điểm sắp thẳng hàng tích lũy giảm tới lượng X kể từ giá trị đạt được tối đa của nó, điểm tích lũy tiến tới không hoặc thấp hơn do tích lũy một hoặc nhiều các phép sắp thẳng hàng nhóm có điểm âm, hoặc đạt đến điểm cuối của trình tự nào đó. Các thông số W, T, và X của thuật toán BLAST xác định độ nhạy và tốc độ của phép sắp thẳng hàng. Chương trình BLASTN (cho các trình tự nucleotit) dùng mặc định độ dài từ (W) là 11, mức mong đợi (E) là 10, ngưỡng giới hạn là 100, M=5, N=-4, và so sánh cả hai dải. Đối với các trình tự axit amin, chương trình BLASTP dùng mặc định độ dài từ (W) là 3, mức mong đợi (E) là 10, và ma trận điểm BLOSUM62 (xem Henikoff & Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 10915 (1989)).

Ngoài tính toán phần trăm tương đồng trình tự, thuật toán BLAST còn thực hiện phân tích thống kê tính tương đồng giữa hai trình tự (xem, ví dụ, Karlin & Altschul, *Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA* 90: 5873-5787 (1993)). Một phép đo tương tự được đưa ra bởi thuật toán BLAST là xác xuất tổng nhỏ nhất (P(N)), nó cho chỉ thị về xác xuất mà do nó, tương xứng giữa hai trình tự nucleotit hoặc axit amin có thể ngẫu nhiên xảy ra. Ví dụ, trình tự axit nucleic thử được coi là tương tự với trình tự tham chiếu nếu xác xuất tổng nhỏ nhất trong so sánh trình tự axit nucleic thử với trình tự axit nucleic tham chiếu là nhỏ hơn khoảng từ 0,1 đến 0,001. Do đó, theo một vài phương án theo sáng chế, xác xuất tổng nhỏ nhất trong so sánh trình tự nucleotit thử với trình tự axit nucleic tham chiếu là nhỏ hơn khoảng 0,001.

Dấu hiệu khác cho thấy hai trình tự axit nucleic hầu như là đồng nhất là hai phân tử lai với nhau dưới các điều kiện nghiêm ngặt. Câu "lai riêng biệt với" dùng để chỉ sự gắn kết, cặp đôi hoặc lai của một phân tử chỉ với một trình tự nucleotit riêng biệt trong các điều kiện nghiêm ngặt khi polynucleotit có mặt trong một hỗn hợp phức (ví dụ, tế bào tổng số) của ADN hoặc của ARN. "(các) Liên kết về cơ bản" dùng để chỉ sự lai bổ sung giữa axit nucleic dò và axit nucleic đích và bao gồm cả những sai lệch nhỏ được tạo ra bằng cách giảm độ nghiêm ngặt của môi trường lai để thu được phát hiện mong muốn của các trình tự axit nucleic đích.

"Các điều kiện lai nghiêm ngặt" và "các điều kiện rửa lai nghiêm ngặt" trong ngữ cảnh thực nghiệm lai axit nucleic như các phép lai Southern và Northern là phụ thuộc vào trình tự, và là khác nhau dưới các thông số môi trường khác nhau. Các polynucleotit có các trình tự dài hơn lai đặc trưng là ở các nhiệt độ cao hơn. Hướng dẫn rộng về lai các axit nucleic tìm được trong Tijssen *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology-Hybridization with Nucleic Acid Probes* phần I chương 2 "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays" Elsevier, New York (1993). Nói chung, các điều kiện lai và rửa nghiêm ngặt cao được chọn là khoảng 5°C thấp hơn nhiệt độ điểm chảy (T_m) đối với trình tự cụ thể ở cường độ ion và pH xác định. Điển hình là, trong "các điều kiện nghiêm ngặt" trình tự dò sẽ lai với trình tự đích của nó, mà không lai với các trình tự khác.

T_m là nhiệt độ (ở cường độ ion và pH xác định) mà ở đó 50% trình tự đích lai với trình tự dò hoàn toàn tương xứng. Các điều kiện rất nghiêm ngặt được chọn là bằng T_m đối với trình tự dò cụ thể. Ví dụ về các điều kiện lai nghiêm ngặt để lai các axit nucleic bổ sung có nhiều hơn 100 nhóm bổ sung trên bộ lọc trong một Southern hoặc Northern blot là 50% formamit với 1mg heparin ở 42°C, lai được tiến hành qua đêm. Ví dụ về các điều kiện rửa lai nghiêm ngặt là 0,1 NaCl 5M ở 72°C trong khoảng 15 phút. Ví dụ về các điều kiện rửa lai nghiêm ngặt là rửa 0,2× SSC ở 65°C trong 15 phút (xem, Sambrook, dưới đây, để mô tả chất đệm SSC). Thông thường, rửa nghiêm ngặt cao được thực hiện trước bởi rửa nghiêm ngặt thấp để tách dấu hiệu dò của nền. Ví dụ về rửa nghiêm ngặt trung bình đối với cặp, ví dụ như, nhiều hơn 100 nucleotit, là 1× SSC ở 45°C trong 15 phút. Ví dụ về rửa nghiêm ngặt thấp đối với cặp, ví dụ, nhiều hơn 100 nucleotit, là 4-6× SSC ở 40°C trong 15 phút. Đối với các trình tự dò ngắn (ví dụ, khoảng 10 đến 50 nucleotit), các điều kiện nghiêm ngặt điển hình là bao gồm nồng độ

muối nhỏ hơn khoảng 1,0M ion Na, điển hình là khoảng 0,01 đến 1,0M nồng độ ion Na (hoặc các muối khác) ở pH 7,0 đến 8,3, và nhiệt độ điển hình ít nhất là khoảng 30°C. Các điều kiện nghiêm ngặt cũng có thể đạt được bằng cách thêm các tác nhân phá ổn định như formamit. Nói chung, dấu hiệu về tỷ lệ tạp 2x (hoặc cao hơn) quan sát được đối với trình tự dò không liên quan trong thử nghiệm lai cụ thể xác định việc phát hiện lai đặc hiệu.

Sau đây là các ví dụ về các bộ điều kiện lai/rửa có thể được dùng để nhân vô tính các trình tự nucleotit tương đồng mà chúng hầu như đồng nhất với các trình tự nucleotit tham chiếu theo sáng chế. Theo một phương án, polynucleotit tham chiếu lai với polynucleotit thử trong natri dodexyl sulfat (SDS) 7%, 0,5M $NaPO_4$, 1mM EDTA ở 50°C với việc rửa trong 2X SSC, 0,1% SDS ở 50°C. Theo phương án khác, polynucleotit tham chiếu lai với polynucleotit "thử" trong natri dodexyl sulfat (SDS) 7%, 0,5M $NaPO_4$, 1mM EDTA ở 50°C với việc rửa trong 1X SSC, 0,1% SDS ở 50°C hoặc trong natri dodexyl sulfat (SDS) 7%, 0,5M $NaPO_4$, 1mM EDTA ở 50°C với việc rửa trong 0,5X SSC, 0,1% SDS ở 50°C. Theo các phương án khác nữa, polynucleotit tham chiếu lai với polynucleotit "thử" trong natri dodexyl sulfat (SDS) 7%, 0,5M $NaPO_4$, 1mM EDTA ở 50°C với việc rửa trong 0,1X SSC, 0,1% SDS ở 50°C, hoặc trong natri dodexyl sulfat (SDS) 7%, 0,5M $NaPO_4$, 1mM EDTA ở 50°C với việc rửa trong 0,1X SSC, 0,1% SDS ở 65°C.

Dấu hiệu khác cho thấy rằng hai polynucleotit hoặc hai trình tự polypeptit hầu như đồng nhất là protein được mã hóa bởi axit nucleic thứ nhất có phản ứng miễn dịch chéo với, hoặc liên kết đặc trưng với protein được mã hóa bởi axit nucleic thứ hai. Do đó, polypeptit thường hầu như đồng nhất với polypeptit thứ hai, ví dụ, khi polypeptit chỉ khác nhau bởi sự thay thế bảo toàn.

Như được sử dụng ở đây, "tổng hợp" dùng để chỉ trình tự polynucleotit hoặc nucleotit chứa các đặc điểm cấu trúc không có mặt ở trình tự polynucleotit hoặc nucleotit tự nhiên. Ví dụ, trình tự nhân tạo tập hợp hàm gần hơn hàm lượng G+C và phân phối codon thông thường của gen của cây hai lá mầm và/hoặc các gen của cây một lá mầm được nói là tổng hợp.

"Polypeptit Vip3" trong ngữ cảnh theo sáng chế nghĩa là protein diệt côn trùng thực vật (VIP) là một thành viên thuộc nhóm Vip3 bao gồm ví dụ nhưng không giới

hạn ở, Vip3Aa1, Vip3Aa2, Vip3Aa3, Vip3Aa19, Vip3Aa20, Vip3Af1, Vip3Af2, Vip3Ag1, và các thể tương đồng của chúng. Một số dấu hiệu cấu trúc mà xác định protein là thuộc nhóm protein Vip3 bao gồm, 1) kích thước khoảng 80-88kDa mà được trải qua quá trình biến đổi do phân giải protein bằng côn trùng hoặc trypsin thành lõi độc tố khoảng 62-66kDa (Lee *et al.,* 2003. Appl. Environ. Microbiol. 69:4648-4657); và 2) tín hiệu tiết ra ở đầu N được bảo tồn cao mà không trải qua quá trình biến đổi tự nhiên trong suốt quá trình tiết ra ở *B. thuringiensis* và bao gồm trình tự axit amin IYGFATGIKDI (SEQ ID NO:114). Các ví dụ không giới hạn về thành viên nhóm Vip3 bao gồm các thành viên được đề cập ở trên và các số truy cập Ngân hàng gen của chúng, Patent Mỹ hoặc số công bố đơn sáng chế là Vip3Aa1 (AAC37036), Vip3Aa2 (AAC37037), Vip3Aa3 (Patent Mỹ số 6137033), Vip3Aa4 (AAR81079), Vip3Aa5 (AAR81080), Vip3Aa6 (AAR81081), Vip3Aa7 (AAK95326), Vip3Aa8 (AAK97481), Vip3Aa9 (CAA76665), Vip3Aa10 (AAN60738), Vip3Aa11 (AAR36859), Vip3Aa12 (AAM22456), Vip3Aa13 (AAL69542), Vip3Aa14 (AAQ12340), Vip3Aa15 (AAP51131), Vip3Aa16 (AAW65132), Vip3Aa17 (Patent Mỹ số 6603063), Vip3Aa18 (AAX49395), Vip3Aa19 (DQ241674), Vip3Aa19 (DQ539887), Vip3Aa20 (DQ539888), Vip3Aa21 (ABD84410), Vip3Aa22 (AAY41427), Vip3Aa23 (AAY41428), Vip3Aa24 (BI 880913), Vip3Aa25 (EF608501), Vip3Aa26 (EU294496), Vip3Aa27 (EU332167), Vip3Aa28 (FJ494817), Vip3Aa29 (FJ626674), Vip3Aa30 (FJ626675), Vip3Aa31 (FJ626676), Vip3Aa32 (FJ626677), Vip3Aa33 (GU073128), Vip3Aa34 (GU073129), Vip3Aa35 (GU733921), Vip3Aa36 (GU951510), Vip3Aa37 (HM132041), Vip3Aa38 (HM117632), Vip3Aa39 (HM117631), Vip3Aa40 (HM132042), Vip3Aa41 (HM132043), Vip3Aa42 (HQ587048), Vip3Aa43 (HQ594534), Vip3Aa44 (HQ650163), Vip3Ab1 (AAR40284), Vip3Ab2 (AAY88247), Vip3Ac1 (Công bố đơn sáng chế Mỹ số 20040128716), Vip3Ad1 (công bố đơn sáng chế Mỹ số 20040128716), Vip3Ad2 (CAI43276), Vip3Ae1 (CAI43277), Vip3Af1 (Patent Mỹ số 7,378,493), Vip3Af2 (ADN08753), Vip3Af3 (HM117634), Vip3Ag1 (ADN08758),Vip3Ag2 (FJ556803),Vip3Ag3 (HM117633), Vip3Ag4 (HQ414237), Vip3Ag5 (HQ542193), Vip3Ah1 (DQ832323), Vip3Ba1 (AAV70653), Vip3Ba2 (HM117635), Vip3Bb1 (Patent Mỹ số 7,378,493), Vip3Bb2 (ABO30520) và Vip3Bb3 (ADI48120).

"Các dạng tương đồng" được dùng ở đây để chỉ polypeptit mang quan hệ xác định với các thành viên nhóm Vip3 của các polypeptit. Quan hệ xác định này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, (1) các polypeptit có độ đồng nhất ít nhất khoảng 70% đến ít nhất khoảng 90% (ví dụ, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90% 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%) về trình tự so với các thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit trong khi vẫn duy trì hoạt tính diệt sinh vật gây hại; (2) các polypeptit phản ứng chéo với các kháng thể mà nhận diện miễn dịch thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit, (3) các polypeptit phản ứng chéo với các thụ thể với thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit và vẫn có khả năng cảm ứng sự chết tế bào được lập trình, và (4) các polypeptit có độ đồng nhất ít nhất khoảng 70% đến ít nhất khoảng 90% (ví dụ, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90% 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 100%) ở mức trình tự với vùng lõi độc tố của thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit trong khi cũng vẫn có hoạt tính diệt sinh vật gây hại. Các dạng tương đồng Vip3 đã được bộc lộ trong các công bố đơn quốc tế số WO 98/18932, WO 98/33991, WO 98/00546, và WO 99/57282.

Do đó, theo một vài phương án của sáng chế, các polypeptit có độ đồng nhất ít nhất 70% về trình tự so với các thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit và/hoặc so với vùng lõi độc tố của một thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit, trong khi vẫn duy trì hoạt tính diệt sinh vật gây hại. Theo các phương án khác của sáng chế, polypeptit đồng nhất ít nhất 80% ở mức trình tự so với các thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit và/hoặc so với vùng lõi độc tố của một thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit, trong khi vẫn duy trì hoạt tính diệt sinh vật gây hại. Theo phương án khác nữa, polypeptit đồng nhất ít nhất 90% về trình tự so với các thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit và/hoặc so với vùng lõi độc tố của một thành viên khác của nhóm Vip3 của các polypeptit, trong khi vẫn duy trì hoạt tính diệt sinh vật gây hại.

Các nucleotit được xác định bởi các bazơ của chúng nhờ các chữ viết tắt chuẩn sau đây: adenin (A), xytosin (C), thymin (T), và guanin (G). Các axit amin tương tự như được chỉ ra nhờ các chữ viết tắt chuẩn sau: alanin (Ala; A), arginin (Arg; R), asparagin (Asn; N), axit aspartic (Asp; D), xystein (Cys; C), glutamin (Gln; Q), axit

glutamic (Glu; E), glyxin (Gly; G), histidin (His; H), isoleuxin (Ile; 1), leuxin (Leu; L), lysin (Lys; K), methionin (Met; M), phenylalanin (Phe; F), prolin (Pro; P), serin (Ser; S), threonin (Thr; T), tryptophan (Trp; W), tyrosin (Tyr; Y), và valin (Val; V).

Sáng chế dựa trên việc phát hiện ra rằng việc thay thế gốc axit amin ở các vị trí cụ thể được xác định trong polypeptit Vip3 có thể làm biến đổi hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) của polypeptit Vip3 về mức độ độc tính đối với tế bào và/hoặc sinh vật, trong đó polypeptit Vip3 là đã biết có hoạt tính và/hoặc liên quan đến quần thể cụ thể mà bị ảnh hưởng bởi polypeptit (ví dụ, trong đó, tính đặc hiệu loài của hoạt tính polypeptit có thể bị cải biến). Do đó, sáng chế đề xuất các polypeptit Vip3 cải biến và phương pháp tạo ra và sử dụng các polypeptit cải biến này.

Theo đó, theo một phương án, sáng chế đề xuất polypeptit được thiết kế có hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB), trong đó polypeptit này bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% (ví dụ, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) với trình tự axit amin của SEQ ID NO: 1 (Vip3D) và còn bao gồm đột biến axit amin ở vị trí tương ứng với vị trí K455 ở SEQ ID NO: 1, trong đó đột biến này cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB) so với hoạt tính diệt ECB của polypeptit kiểu dại mà polypeptit được thiết kế có nguồn gốc từ polypeptit này (ví dụ SEQ ID NO: 1 (Vip3D)).

Sáng chế cũng bộc lộ polypeptit Vip3 cải biến chứa đột biến tương ứng với hoặc ở một hoặc nhiều vị trí được bộc lộ trong bảng 1, trong đó polypeptit Vip3 cải biến có hoạt tính đặc hiệu cao hơn kháng côn trùng gây hại đích so với polypeptit Vip3 không cải biến.

Bảng 1. Các vị trí đối với các đột biến axit amin trong polypeptit được thiết kế theo điểm 1

Việc đánh số các gốc axit amin dựa trên trình tự axit amin của SEQ ID NO:1 (Vip3D).

Thiết yếu
S200

	257	284	358	362	581	633	663	672	689	699	700
N704	706	707	708	712	716	720	732	733	749	753	762
N763	764	765	766	768	772	778	780	784			
Hiệp đồng											
K668	681	683	686	688	691	696	701	703	714	721	722
T724	728	744	746	747	748	750	756	760	761	773	774
G775	779	781	783								
Hiệp đồng ẩn											
N312	338	342	347	355	372	374	380	391	392	400	415
D426	432	433	438	449	455	465	470	471	480	494	495
A496	501	503	504	514	532	543	544	546	547	580	591
T600	605	608	613	614	616	617	618	625	629	635	637
L642	643	649	650	658	660	661	665	669	670	682	685
T687	690	698	702	710	725	726	729	730	743	745	751
H752	755	758	776	785							

Sáng chế bộc lộ polypeptit được thiết kế bao gồm trình tự axit amin có ít nhất 95% (ví dụ, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) đồng nhất với trình tự axit amin của SEQ ID NO:1 (Vip3D) và còn bao gồm ít nhất một đột biến axit amin ở vị trí tương ứng với vị trí axit amin của S200, A257, K284, V358, D660, K661, L665, P669, A670, N682, I685, T687, A690, F698, G702, S710, A725, S726, F729, N730, R743, N745, S751, H752, G755, K758, G776, V785, M362, F581, T633, T663, D672, G689, I699, N700, N704, T706, F707, R708, S712, Y716, S720, T732, V733, S749, I753, N762, N763, T764, G765, L766, V768, R772, G778, I780, N784, K668, P681, S683, T686, P688, S691, K696, L701, T703, N714, I721, S722, T724, P728, S744, L746, M747, S748, T750, T756, E760, S761, R773, S774, G775, H779, S781, E783, N312, V338, D342, M347, H355, V372, E374, N380, V391, I392, F400, V415, D426, K432, T433, V438, E449, K455, R465, N470, D471, V480, L494, Q495, A496, R501, I503, T504, L514, S532, S543, I544,

E546, D547, G580, P591, T600, P605, H608, N613, T614, Y616, I617, H618, N625, Y62P, R635, T637, L642, K643, L649, K650, W658, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng, trong trình tự axit amin của SEQ ID NO:1, trong đó đột biến cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB) so với hoạt tính diệt ECB của polypeptit kiểu dại mà polypeptit được thiết kế có nguồn gốc từ đó (ví dụ, SEQ ID NO:1). Theo các khía cạnh khác, ít nhất một axit amin đột biến là ở vị trí S200, A257, K284, V358, D660, K661, L665, P669, A670, N682, I685, T687, A690, F698, G702, S710, A725, S726, F729, N730, R743, N745, S751, H752, G755, K758, G776, V785, M362, F581, T633, T663, D672, G689, I699, N700, N704, T706, F707, R708, S712, Y716, S720, T732, V733, S749, I753, N762, N763, T764, G765, L766, V768, R772, G778, I780, N784, K668, P681, S683, T686, P688, S691, K696, L701, T703, N714, I721, S722, T724, P728, S744, L746, M747, S748, T750, T756, E760, S761, R773, S774, G775, H779, S781, E783, N312, V338, D342, M347, H355, V372, E374, N380, V391, I392, F400, V415, D426, K432, T433, V438, E449, K455, R465, N470, D471, V480, L494, Q495, A496, R501, I503, T504, L514, S532, S543, I544, E546, D547, G580, P591, T600, P605, H608, N613, T614, Y616, I617, H618, N625, Y62P, R635, T637, L642, K643, L649, K650, W658, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng, trong trình tự axit amin của SEQ ID NO:1, trong đó đột biến cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB) so với hoạt tính diệt ECB của polypeptit kiểu dại (SEQ ID NO:1).

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất polypeptit được thiết kế bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% (ví dụ, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9%) với trình tự axit amin của SEQ ID NO:1 (Vip3D) và còn chứa đột biến axit amin ở vị trí tương ứng với hoặc ở vị trí axit amin của K455, trong SEQ ID NO:1, trong đó đột biến này cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB) so với hoạt tính diệt ECB của polypeptit kiểu dại mà polypeptit được thiết kế có nguồn gốc từ đó (ví dụ, SEQ ID NO:1).

Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất polypeptit được thiết kế bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với trình tự axit amin của SEQ ID NO:1 (Vip3D) và còn bao gồm đột biến axit amin là đột biến tương ứng với hoặc là đột biến

của K455A, K455N, K455T, K455G, K455I, K455E, trong trình tự axit amin của SEQ ID NO:1, trong đó đột biến này cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB) so với hoạt tính diệt ECB của polypeptit kiểu dại mà polypeptit được thiết kế có nguồn gốc từ đó (ví dụ, SEQ ID NO:1).

Theo các phương án bổ sung, polypeptit được thiết kế được đề xuất bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% với trình tự axit amin của SEQ ID NO:1 (Vip3D) và còn bao gồm đột biến axit amin tương đương với các đột biến axit amin của: đột biến ở K455A và ở V338A, trong trình tự axit amin của SEQ ID NO:1, trong đó đột biến này cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB) so với hoạt tính diệt ECB của polypeptit kiểu dại mà polypeptit được thiết kế có nguồn gốc từ đó (ví dụ, SEQ ID NO:1).

Tất nhiên, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rằng các cải biến axit amin này không cần được thực hiện chính trong các polypeptit này (mặc dù việc tổng hợp hóa học của các polypeptit này là đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này), nhưng có thể còn được thực hiện thông qua gây đột biến của polynucleotit mã hóa polypeptit này. Các phương pháp để gây đột biến polynucleotit này được mô tả cụ thể ở đây, và các polypeptit làm ví dụ minh họa được tạo ra bằng cách sử dụng các phương pháp này được mô tả chi tiết trong phần ví dụ thực hiện sáng chế sau đây.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit theo sáng chế. Theo một vài phương án, trình tự nucleotit mã hóa polypeptit bao gồm, nhưng không giới hạn ở, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:4, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:6, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:8, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:10, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:12, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:14, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:19, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:21, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:23, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:25, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:27, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:29, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:31, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:33, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:35, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:37, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:39, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:41, trình tự nucleotit

của SEQ ID NO:43, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:45, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:47, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:49, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:51, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:53, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:55, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:57, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:59, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:61, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:63, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:65, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:67, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:69, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:71, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:73, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:75, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:77, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:79, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:81, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:83, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:85, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:87, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:89, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:91, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:93, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:95, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:97, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:99, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:101, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:103, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:105, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:107, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:109, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:111, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:113, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:116, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:118, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:120, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:122, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:124, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:126, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:128, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:130, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất phân tử axit nucleic tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit được thiết kế theo sáng chế.

Sáng chế cũng đề xuất phân tử axit nucleic tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa trình tự axit amin của SEQ ID NO:3, trình tự axit amin của SEQ ID NO:5, trình tự axit amin của SEQ ID NO:7, trình tự axit amin của SEQ ID NO:9, trình tự axit amin của SEQ ID NO:11, trình tự axit amin của SEQ ID NO:13, trình tự axit amin của SEQ ID NO:18, trình tự axit amin của SEQ ID NO:20, trình tự axit amin của SEQ ID NO:22, trình tự axit amin của SEQ ID NO:24, trình tự axit amin của SEQ ID NO:26, trình tự axit amin của SEQ ID NO:28, trình tự axit amin của SEQ ID NO:30, trình tự axit amin của SEQ ID NO:32, trình tự axit amin của SEQ ID NO:34, trình tự axit amin của SEQ ID NO:36, trình tự axit amin của SEQ ID NO:38, trình tự axit amin của SEQ

ID NO:40, trình tự axit amin của SEQ ID NO:42, trình tự axit amin của SEQ ID NO:44, trình tự axit amin của SEQ ID NO:46, trình tự axit amin của SEQ ID NO:48, trình tự axit amin của SEQ ID NO:50, trình tự axit amin của SEQ ID NO:52, trình tự axit amin của SEQ ID NO:54, trình tự axit amin của SEQ ID NO:56, trình tự axit amin của SEQ ID NO:58, trình tự axit amin của SEQ ID NO:60, trình tự axit amin của SEQ ID NO:62, trình tự axit amin của SEQ ID NO:64, trình tự axit amin của SEQ ID NO:66, trình tự axit amin của SEQ ID NO:68, trình tự axit amin của SEQ ID NO:70, trình tự axit amin của SEQ ID NO:72, trình tự axit amin của SEQ ID NO:74, trình tự axit amin của SEQ ID NO:76, trình tự axit amin của SEQ ID NO:78, trình tự axit amin của SEQ ID NO:80, trình tự axit amin của SEQ ID NO:82, trình tự axit amin của SEQ ID NO:84, trình tự axit amin của SEQ ID NO:86, trình tự axit amin của SEQ ID NO:88, trình tự axit amin của SEQ ID NO:90, trình tự axit amin của SEQ ID NO:92, trình tự axit amin của SEQ ID NO:94, trình tự axit amin của SEQ ID NO:96, trình tự axit amin của SEQ ID NO:98, trình tự axit amin của SEQ ID NO:100, trình tự axit amin của SEQ ID NO:102, trình tự axit amin của SEQ ID NO:104, trình tự axit amin của SEQ ID NO:106, trình tự axit amin của SEQ ID NO:108, trình tự axit amin của SEQ ID NO:110, trình tự axit amin của SEQ ID NO:112, trình tự axit amin của SEQ ID NO:115, trình tự axit amin của SEQ ID NO:117, trình tự axit amin của SEQ ID NO:119, trình tự axit amin của SEQ ID NO:121, trình tự axit amin của SEQ ID NO:123, trình tự axit amin của SEQ ID NO:125, trình tự axit amin của SEQ ID NO:127, trình tự axit amin của SEQ ID NO:129, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo các phương án khác, phân tử axit nucleic tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit của SEQ ID NO:4, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:6, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:8, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:10, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:12, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:14, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:19, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:21, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:23, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:25, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:27, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:29, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:31, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:33, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:35, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:37, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:39, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:41, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:43, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:45, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:47, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:49, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:51,

trình tự nucleotit của SEQ ID NO:53, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:55, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:57, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:59, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:61, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:63, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:65, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:67, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:69, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:71, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:73, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:75, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:77, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:79, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:81, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:83, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:85, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:87, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:89, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:91, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:93, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:95, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:97, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:99, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:101, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:103, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:105, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:107, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:109, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:111, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:113, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:116, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:118, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:120, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:122, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:124, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:126, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:128, trình tự nucleotit của SEQ ID NO:130, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo một vài phương án, biểu hiện của phân tử axit nucleic theo sáng chế tạo ra các polypeptit có thể được sử dụng để kiểm soát côn trùng bộ cánh vảy bao gồm, nhưng không giới hạn ở, *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu), *Plutella xylostella* (sâu tơ), *Spodoptera frugiperda* (sâu xanh mùa thu), *Agrotis ipsilon* (sâu xám), *Agrotis orthogonia* (sâu ngài xanh xám phương Tây), *Striacosta albicosta* (sâu ngài hại đậu tương phương Tây), *Helicoverpa zea* (sâu đục quả bông), *Heliothis virescens* (sâu đục chồi ở cây thuốc lá), *Spodoptera exigua* (sâu xanh da láng), *Helicoverpa punctigera* (sâu đục chồi tự nhiên), *Helicoverpa armigera* (sâu đục quả bông), *Manduca sexta* (sâu sừng thuốc lá), *Trichoplusia ni* (sâu đo trên cải bắp), *Pectinophora gossypiella* (sâu đục quả màu hồng), *Diatraea grandiosella* (sâu đục thân ngô Tây Nam), *Diatraea saccharalis* (sâu đục thân mía), *Elasmopalpus lignosellus* (sâu nhỏ đục thân ngô), *Psuedoplusia includens* (sâu đo trên cây đậu

tương), *Anticarsia gemmatalis* (sâu bướm hại đậu mèo rừng), *Plathypena scabra* (sâu xanh hại cỏ ba lá), và *Cochylis hospes* (sâu bướm hại hướng dương có viền lưng).

Theo các phương án khác, sự biểu hiện của phân tử axit nucleic theo sáng chế tạo ra các polypeptit có thể được sử dụng để kiểm soát sinh vật gây hại là giun tròn bao gồm, nhưng không giới hạn ở, *Meloidogyne* spp. (ví dụ, *Meloidogyne incoginita* và *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne arenari*), *Heterodera* spp. (ví dụ, *Heterodera glyxins*, *Heterodera carotae*, *Heterodera schachtii*, *Heterodora avenae* và *Heterodora trifolii*), *Globodera* spp. (ví dụ, *Globodera rostochiensis*), *Radopholus* spp. (ví dụ, *Radopholus similes*), *Rotylenchulus* spp., *Pratylenchus* spp. (ví dụ, *Pratylenchus neglectans* và *Pratylenchus penetrans*), *Aphelenchoides* spp., *Helicotylenchus* spp., *Hoplolaimus* spp., *Paratrichodorus* spp., *Longidorus* spp., *Nacobbus* spp., *Subanguina* spp. *Belonlaimus* spp., *Criconemella* spp., *Criconemoides* spp. *Ditylenchus* spp., *Ditylenchus dipsaci*, *Dolichodorus* spp., *Hemicriconemoides* spp., *Hemicycliophora* spp., *Hirschmaniella* spp., *Hypsoperine* spp., *Macroposthonia* spp., *Melinius* spp., *Punctodera* spp., *Quinisulcius* spp., *Scutellonema* spp., *Xiphinema* spp., *Tylenchorhynchus* spp. và/hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo các phương án khác, phân tử axit nucleic còn bao gồm trình tự promotơ khác loại liên kết hoạt động với trình tự nucleotit của sáng chế. Do đó, là một ví dụ, các trình tự nucleotit Vip3 được thiết kế theo sáng chế có thể dung hợp hoạt động với nhiều promotơ khác nhau để biểu hiện trong các tế bào chủ (ví dụ, các tế bào thực vật). Các promotơ này có thể bao gồm, ví dụ, các promotơ cơ định, cảm ứng, điều hòa tạm thời, điều hòa mở rộng, điều hòa hóa học, ưu tiên cho mô và đặc hiệu cho mô tạo ra các phân tử tái tổ hợp ADN, có nghĩa là các gen khảm.

"Promotơ" là trình tự ADN không dịch mã nằm trước vùng mã hóa có chứa vị trí gắn kết đối với polymeraza ARN và khởi đầu phiên mã của ADN. "Vùng promotơ" cũng có thể chứa các phần tử khác có tác dụng như phần tử điều hòa biểu hiện gen. Theo các khía cạnh cụ thể, "promotơ" hữu dụng theo sáng chế là promotơ có khả năng khởi đầu sự phiên mã của trình tự nucleotit trong tế bào của cây.

Việc lựa chọn promotơ phụ thuộc nhiều vào các yêu cầu về thời gian và không gian biểu hiện, và cũng phụ thuộc vào tế bào chủ được biến nạp. Do đó, ví dụ, biểu hiện của các trình tự nucleotit theo sáng chế có thể ở cây và/hoặc bộ phận của cây bất

kỳ, (ví dụ, trong lá, trong thân hoặc cuống, trong bông, trong cụm hoa (ví dụ như bông, trùm, bắp…)), trong rễ, và/hoặc cây giống con, và tương tự). Tuy nhiên, trong nhiều trường hợp, đòi hỏi sự bảo vệ chống lại nhiều hơn một loại côn trùng gây hại, và do đó biểu hiện trong nhiều mô là cần thiết. Mặc dù nhiều promotơ từ các cây hai lá mầm đã thể hiện hoạt động trong các cây một lá mầm và ngược lại, lý tưởng là các promotơ của cây hai lá mầm được chọn để biểu hiện trong cây hai lá mầm và các promotơ của cây một lá mầm để biểu hiện trong cây một lá mầm. Tuy nhiên, không có hạn chế cho nguồn gốc của các promotơ được chọn; miễn là chúng hoạt động theo hướng biểu hiện các polynucleotit trong tế bào mong muốn.

Các promotơ hữu dụng theo sáng chế bao gồm các promotơ dẫn đến sự biểu hiện của polynucleotit một cách cơ định, các promotơ dẫn đến sự biểu hiện khi cảm ứng, và các promotơ dẫn đến sự biểu hiện theo cách đặc hiệu mở rộng hoặc mô. Các loại promotơ khác nhau này là đã biết trong lĩnh vực này.

Các ví dụ về promotơ cơ định bao gồm, nhưng không giới hạn ở, promotơ virut xestrum (cmp) (Patent Mỹ số 7,166,770), promotơ actin 1 của lúa (Wang *et al.,* (1992) *Mol. Cell. Biol.* 12:3399-3406; cũng như Patent Mỹ số 5,641,876), promotơ CaMV 35S (Odell *et al.,* (1985) *Nature* 313:810-812), promotơ CaMV 19S (Lawton *et al.,* (1987) *Plant Mol. Biol.* 9:315-324), promotơ nos (Ebert *et al.,* (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 84:5745-5749), promotơ Adh (Walker *et al.,* (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:6624-6629), promotơ sucroza synthetaza (Yang & Russell (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:4144-4148), và promotơ ubiquitin. Promotơ cơ định có nguồn gốc từ ubiquitin tích lũy trong nhiều kiểu tế bào. Promotơ ubiquitin đã được nhân bản từ một số loài để dùng trong các thực vật chuyển gen, ví dụ, hướng dương (Binet *et al.,* 1991. *Plant Science* 79: 87-94), ngô (Christensen *et al.,* 1989. *Plant Molec. Biol.* 12: 619-632), và arabidopsis (Norris *et al.,* 1993. *Plant Molec. Biol.* 21:895-906). Promotơ ubiquitin ở ngô (*UbiP*) đã được phát triển trong các hệ cây một lá mầm chuyển gen và trình tự và các vectơ của nó được cấu trúc để biến nạp cây một lá mầm được bộc lộ trong công bố đơn sáng chế châu Âu số 0342926. Promotơ ubiquitin là thích hợp để biểu hiện polynucleotit theo sáng chế trong các thực vật chuyển gen, đặc biệt là các cây một lá mầm. Ngoài ra, các caset biểu hiện promotơ được mô tả bởi McElroy và cộng sự, (*Mol. Gen. Genet.* 231: 150-160 (1991)) có thể dễ dàng cải biến để biểu hiện

polynucleotit theo sáng chế và đặc biệt thích hợp để dùng trong các vật chủ là cây một lá mầm.

Theo một vài phương án, promotơ đặc hiệu mô có thể được sử dụng. Các mẫu biểu hiện đặc hiệu mô bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đặc hiệu mô xanh, đặc hiệu rễ, đặc hiệu thân, và đặc hiệu hoa. Các promotơ thích hợp để biểu hiện trong mô xanh bao gồm nhiều promotơ mà điều hòa gen liên quan đến quang tổng hợp và nhiều promotơ trong số này được nhân bản từ cả hai loại cây một lá mầm và cây hai lá mầm. Theo một phương án, promotơ hữu ích theo sáng chế là promotơ PEPC của ngô có từ gen phosphoenol carboxylaza (Hudspeth & Grula, *Plant Molec. Biol.* 12:579-589 (1989)). Các ví dụ không giới hạn về promotơ đặc hiệu mô bao gồm promotơ kết hợp với gen mã hóa protein lưu trữ hạt (như β-conglycinin, cruciferin, napin và phaseolin), zein hoặc protein thể dầu (như oleosin), hoặc protein liên quan đến sinh tổng hợp axit béo (bao gồm protein mang axyl, stearoyl-ACP desaturaza và axit béo desaturaza (fad 2-1)), và axit nucleic khác được biểu hiện trong quá trình phát triển mầm (như Bce4, xem, ví dụ, Kridl *et al.,* (1991) *Seed Sci. Res.* 1:209-219; cũng như Patent châu Âu số 255378). Promotơ đặc hiệu mô hoặc ưu tiên cho mô hữu dụng cho biểu hiện của các polynucleotit mã hóa các polypeptit diệt sinh vật gây hại mới theo sáng chế ở cây, cụ thể là ngô, là các promotơ hướng đến sự biểu hiện trong rễ, ruột cây, lá hoặc phấn hoa. Các promotơ này đã được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO 93/07278. Các promotơ đặc hiệu mô khác hữu ích theo sáng chế bao gồm promotơ rubisco ở bông được bộc lộ trong Patent Mỹ số 6,040,504; promotơ sucroza synthaza ở lúa được bộc lộ trong Patent Mỹ số 5,604,121; promotơ đặc hiệu của rễ được mô tả bởi de Framond (FEBS 290:103-106 (1991); công bố đơn châu Âu số 0452269 của Ciba- Geigy); promotơ đặc hiệu cho thân được mô tả trong Patent Mỹ số 5,625,136 (cho Ciba-Geigy) và dẫn đến biểu hiện của gen trpA ở ngô; và promotơ virut cuốn lá vàng cestrum được bộc lộ trong công bố đơn quốc tế số WO 01/73087.

Các ví dụ bổ sung về promotơ đặc hiệu mô bao gồm, nhưng không giới hạn ở, promotơ đặc hiệu cho rễ *RCc3* (Jeong *et al., Plant Physiol.* 153:185-197 (2010)) và RB7 (Patent Mỹ số 5459252), promotơ lectin (Lindstrom *et al.,* (1990) *Der. Genet.* 11:160-167; và Vodkin (1983) *Prog. Clin. Biol. Res.* 138:87-98), promotơ alcohol dehydrogenaza 1 ở ngô (Dennis *et al.,* (1984) *Axit nucleic Res.* 12:3983-4000), S-adenosyl-L-methionin synthaza (SAMS) (Vander Mijnsbrugge *et al.,* (1996) *Plant and*

Cell Physiology, 37(8):1108-1115), promotơ phức hệ thu hoạch ưa sáng ở ngô (Bansal *et al.,* (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:3654-3658), promotơ protein sốc nhiệt ở ngô (O'Dell *et al.,* (1985) *EMBO J.* 5:451-458; và Rochester *et al.,* (1986) *EMBO J.* 5:451-458), promotơ RuBP carboxylaza nhỏ siêu phân tử ở đậu Hà Lan (Cashmore, "Nuclear genes encoding the small subunit of ribulose-l,5-bisphosphate carboxylase" tr. 29-39 In: *Genetic Engineering of Plants* (Hollaender ed., Plenum Press 1983; và Poulsen *et al.,* (1986) *Mol. Gen. Genet.* 205:193-200), promotơ Ti Plasmit mannopin synthaza (Langridge *et al.,* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:3219-3223), promotơ Ti Plasmit nopalin synthaza (Langridge *et al.,* (1989), *supra*), promotơ petunia chalcon isomeaza (van Tunen *et al.,* (1988) *EMBO J.* 7:1257-1263), promotơ glyxin giàu protein 1 ở đậu cô ve (Keller *et al.,* (1989) *Genes Dev.* 3:1639-1646), promotơ CaMV 35S cắt ngắn (O'Dell *et al.,* (1985) *Nature* 313:810-812), promotơ patatin ở khoai tây (Wenzler *et al.,* (1989) *Plant Mol. Biol.* 13:347-354), promotơ ở tế bào rễ (Yamamoto *et al.,* (1990) *Axit nucleic Res.* 18:7449), promotơ zein ở ngô (Kriz *et al.,* (1987) *Mol. Gen. Genet.* 207:90-98; Langridge *et al.,* (1983) *Cell* 34:1015-1022; Reina *et al.,* (1990) *Axit nucleic Res.* 18:6425; Reina *et al.,* (1990) *Axit nucleic Res.* 18:7449; và Wandelt *et al.,* (1989) *Axit nucleic Res.* 17:2354), promotơ globulin-1 (Belanger *et al.,* (1991) *Genetics* 129:863-872), promotơ α-tubulin cab (Sullivan *et al.,* (1989) *Mol. Gen. Genet.* 215:431-440), promotơ PEPCase (Hudspeth & Grula (1989) *Plant Mol. Biol.* 12:579-589), promotơ phức hệ liên kết gen R (Chandler *et al.,* (1989) *Plant Cell* 1:1175-1183), và promotơ chalcon synthaza (Franken *et al.,* (1991) *EMBO J.* 10:2605-2612). Cụ thể là hữu dụng cho biểu hiện đặc hiệu của hạt là promotơ vixilin ở đậu Hà lan (Czako *et al.,* (1992) *Mol. Gen. Genet.* 235:33-40; cũng như promotơ đặc hiệu cho hạt được bộc lộ trong Patent Mỹ số 5,625,136).

Các promotơ hữu dụng khác để biểu hiện trong lá thành thucj là các promotơ bắt đầu sự tấn công của sự già đi, như promotơ SAG từ *Arabidopsis* (Gan *et al.,* (1995) *Science* 270:1986-1988).

Ngoài ra, promotơ chức năng trong lạp thể có thể được sử dụng. Các ví dụ không giới hạn về promotơ này bao gồm gen T3 9 5' UTR thể thực khuẩn và các promotơ khác được bộc lộ trong Patent Mỹ số 7,579,516. Các promotơ hữu dụng khác theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, promotơ RuBP carboxylaza nhỏ dưới đơn vị S-E9 và promotơ ức chế Kunitz trypsin (Kti3).

Theo một vài phương án của sáng chế, promotơ cảm ứng có thể được sử dụng. Việc điều hòa sự biểu hiện của các polynucleotit theo sáng chế qua promotơ mà được điều hòa hóa học cho phép, ví dụ, polypeptit Vip3s được tổng hợp chỉ khi cây trồng được xử lý bằng các chất hóa học cảm ứng. Các ví dụ về promotơ cảm ứng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, promotơ hệ kìm hãm tetraxyclin, promotơ hệ kìm hãm Lac, promotơ hệ cảm ứng đồng, promotơ hệ cảm ứng salixylat (ví dụ, hệ PR1a), promotơ cảm ứng glucocorticoit (Aoyama *et al.,* (1997) *Plant J.* 11:605-612), và promotơ hệ cảm ứng ecdyson. Các promotơ cảm ứng khác bao gồm promotơ cảm ứng ABA và promotơ cảm ứng trương lực, promotơ protein gắn kết auxin (Schwob *et al.,* (1993) *Plant J.* 4:423-432), promotơ UDP glucoza flavonoit glycosyl-transferaza (Ralston *et al.,* (1988) *Genetics* 119:185-197), promotơ chất ức chế proteinaza MPI (Cordero *et al.,* (1994) *Plant J.* 6:141-150), và promotơ glyxeraldehyt-3-phosphat dehydrogenaza (Kohler *et al.,* (1995) *Plant Mol. Biol.* 29:1293-1298; Martinez *et al.,* (1989) *J. Mol. Biol.* 208:551-565; và Quigley *et al.,* (1989) *J. Mol. Evol.* 29:412-421). Cũng được bao gồm là hệ cảm ứng benzen sulphonamit (Patent Mỹ số 5,364,780) và hệ cảm ứng rượu (công bố đơn quốc tế số WO 97/06269 và WO 97/06268) và promotơ glutathion S-transferaza. Tương tự, một người có thể sử dụng bất kỳ trong số các promotơ cảm ứng được mô tả trong Gatz (1996) *Current Opinion Biotechnol.* 7:168-172 và Gatz (1997) *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48:89-108. Promotơ cảm ứng hóa học khác hữu dụng để hướng đến sự biểu hiện của các gen mã hóa các polypeptit diệt sinh vật gây hại mới theo sáng chế ở cây được bộc lộ trong Patent Mỹ số 5,614,395. Cảm ứng hóa học về sự biểu hiện gen còn được mô tả chi tiết trong công bố đơn châu Âu số 0332104 (Ciba- Geigy) và Patent Mỹ số 5,614,395. Theo một vài phương án, promotơ cho cảm ứng hóa học có thể là promotơ PR-1 ở thuốc lá.

Các khía cạnh bổ sung của sáng chế đề xuất các polynucleotit theo sáng chế liên kết hoạt động với promotơ mà cảm ứng do tổn thương hoặc cảm ứng do tấn công của bệnh thực vật/sinh vật gây hại. Nhiều promotơ mà đã được biểu hiện ở vị trí tổn thương và/hoặc ở vị trí bị tấn công đã được mô tả. Lý tưởng là, promotơ này nên chỉ hoạt động cục bộ ở vị trí bị tấn công, và theo cách này các polypeptit diệt sinh vật gây hại chỉ tích lũy trong các tế bào cần tổng hợp các polypeptit diệt sinh vật gây hại để gây chết sinh vật gây hại xâm lấn. Các promotơ này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, promotơ được mô tả bởi Stanford *et al., Mol. Gen. Genet.* 215:200-208 (1989), Xu *et*

al., Plant Molec. Biol. 22:573-588 (1993), Logemann *et al., Plant Cell* 1:151-158 (1989), Rohrmeier & Lehle, *Plant Molec. Biol.* 22:783-792 (1993), Firek *et al., Plant Molec. Biol.* 22:129-142 (1993), và Warner *et al., Plant J.* 3:191-201 (1993).

Theo các phương án khác, phân tử axit nucleic theo sáng chế có thể được bao gồm trong vectơ tái tổ hợp. Vectơ để dùng trong biến nạp thực vật và các sinh vật khác là đã biết rõ trong lĩnh vực này.

Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất tế bào chủ chuyển gen không phải của người chứa phân tử axit nucleic theo sáng chế. Tế bào chủ không phải của người có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tế bào thực vật, tế bào vi khuẩn, tế bào nấm men, hoặc tế bào côn trùng. Theo đó, theo một vài phương án, sáng chế đề xuất tế bào vi khuẩn chứa phân tử axit nucleic theo sáng chế. Theo phương án khác, sáng chế đề xuất tế bào nấm men chứa phân tử axit nucleic theo sáng chế. Theo các phương án khác nữa, sáng chế đề xuất tế bào thực vật chứa phân tử axit nucleic theo sáng chế.

Do đó, ví dụ, làm các chất sinh học kiểm soát côn trùng, các polypeptit diệt sinh vật gây hại theo sáng chế có thể được tạo ra bởi biểu hiện của các polypeptit mã hóa polynucleotit theo sáng chế trong tế bào chủ khác loại có khả năng biểu hiện polynucleotit. Do đó, ví dụ, theo một phương án, sáng chế đề xuất tế bào *B. thuringiensis* chứa một hoặc nhiều polynucleotit.

Theo một vài phương án, ít nhất một polynucleotit theo sáng chế được chèn vào caset biểu hiện, chứa phần tử cần thiết để biểu hiện polynucleotit này. caset biểu hiện có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở, promotơ và các tín hiệu kết thúc. Biểu hiện của polynucleotit trong caset biểu hiện có thể là cơ định, hoặc có thể là cảm ứng, tùy thuộc vào việc lựa chọn promotơ, như thảo luận ở trên. Theo một vài phương án, promotơ cảm ứng có thể đáp ứng với nhiều dạng kích thích để khởi đầu phiên mã có thể được sử dụng. Theo một vài phương án, tế bào trong đó polypeptit diệt sinh vật gây hại có thể được biểu hiện là tế bào từ vi sinh vật, như vi khuẩn hoặc nấm. Theo phương án khác, virut, như baculovirut, chứa polynucleotit theo sáng chế trong bộ gen của nó và biểu hiện lượng lớn polypeptit diệt sinh vật gây hại tương đương sau khi nhiễm các tế bào nhân thực thích hợp để sao chép virut và biểu hiện polynucleotit. Polypeptit diệt sinh vật gây hại nhờ đó được tạo ra có thể được sử dụng làm chất diệt sinh vật gây hại, diệt côn trùng và/hoặc diệt giun tròn. Tùy ý, baculovirut được thiết kế để chứa một hoặc nhiều polynucleotit theo sáng chế có thể được sử dụng để gây nhiễm

cho côn trùng *in vivo* và gây chết chúng hoặc bằng biểu hiện của polypeptit diệt sinh vật gây hại hoặc bằng kết hợp gây nhiễm virut và biểu hiện polypeptit diệt sinh vật gây hại.

Theo phương án khác, polynucleotit theo sáng chế có thể được đưa vào virut tự sao chép không gây bệnh thực vật.

Như thảo luận ở trên, tế bào vi khuẩn còn có thể là vật chủ để biểu hiện polynucleotit theo sáng chế. Theo một phương án, vi khuẩn cộng sinh không gây bệnh thực vật, có khả năng sống và sinh sản trong mô thực vật, được gọi là cộng sinh, hoặc vi khuẩn cộng sinh không truyền bệnh thực vật có khả năng ký sinh ở vùng lá hoặc vùng rễ, (ví dụ, biểu sinh) có thể được sử dụng. Các vi khuẩn này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, vi khuẩn thuộc giống *Agrobacterium, Alcaligenes, Azospirillum, Azotobacter, Bacillus, Clavibacter, Enterobacter, Erwinia, Flavobacter, Klebsiella, Pseudomonas, Rhizobium, Serratia, Streptomyces* và *Xanthomonas*. Nấm cộng sinh, như *Trichoderma* và *Gliocladium* cũng có thể là vật chủ để biểu hiện một hoặc nhiều polynucleotit theo sáng chế.

Các kỹ thuật để biến nạp các tế bào sinh vật/vật chủ khác nhau là đã biết trong lĩnh vực này. Ví dụ, vectơ biểu hiện pKK223-3 và pKK223-2 có thể được sử dụng để biểu hiện gen dị hợp trong *E. coli*, trong tiếp hợp phiên mã hoặc dịch mã, sau promotơ tac hoặc trc. Để biểu hiện operon mã hóa nhiều ORF, một quy trình chèn operon vào một vectơ như pKK223-3 trong tiếp hợp phiên mã, cho phép vị trí gắn kết ribosom cùng gốc của các gen khác loại được sử dụng. Các kỹ thuật để biểu hiện quá mức trong các loài gram dương như *Bacillus* cũng được biết đến trong lĩnh vực và có thể được sử dụng trong ngữ cảnh sáng chế (Quax *et al.,* trong: *Industrial Microorganisms:Basic and Applied Molecular Genetics*, Eds. Baltz *et al.,* American Society for Microbiology, Washington (1993)). Hệ thống khác để biểu hiện quá mức, ví dụ, trên vectơ nấm men và bao gồm việc sử dụng *Pichia*, *Saccharomyces* và/hoặc *Kluyveromyces* (Sreekrishna, trong: *Industrial Microorganisms:Basic and Applied Molecular Genetics*, Baltz, Hegeman, và Skatrud eds., American Society for Microbiology, Washington (1993); Dequin & Barre, *Biotechnology* L2:173- 177 (1994); van den Berg *et al., Biotechnology* 8:135-139 (1990)).

Theo các phương án khác, một hoặc nhiều polypeptit diệt sinh vật gây hại theo sáng chế có thể biểu hiện ở sinh vật cao hơn, ví dụ, ở thực vật. Do đó, theo một số khía cạnh, sáng chế đề xuất thực vật chuyển gen chứa tế bào còn chứa polynucleotit và/hoặc phân tử axit nucleic theo sáng chế được đề xuất. Phương pháp tạo ra tế bào thực vật chuyển gen và thực vật chuyển gen là đã biết trong lĩnh vực này, được thảo luận dưới đây.

Theo một vài phương án, thực vật chuyển gen biểu hiện lượng có hiệu quả các polypeptit diệt sinh vật gây hại có thể bảo vệ chúng khỏi các côn trùng gây hại. Do đó, khi côn trùng bắt đầu ăn thực vật chuyển gen theo sáng chế, nó cũng tiêu hóa cả polypeptit được biểu hiện. Ăn polypeptit diệt sinh vật gây hại có thể ngăn không cho côn trùng ăn tiếp tục vào mô của cây hoặc thậm chí có thể gây tổn thương hay gây chết côn trùng.

Theo một vài phương án, polynucleotit theo sáng chế có thể được chèn ổn định vào bộ gen của tế bào thực vật, nhờ đó biến nạp ổn định tế bào thực vật. Theo một vài phương án, trong đó tế bào thực vật, bộ phận của cây, hoặc nuôi cấy mô được biến nạp ổn định, cây được biến nạp ổn định có thể tạo ra từ đây. Theo các phương án khác của sáng chế, cây có thể được biến nạp tạm thời.

“Biến nạp" là quá trình đưa một hoặc nhiều polynucleotit khác loại vào một tế bào chủ hay sinh vật chủ.

"Biến nạp tạm thời" trong ngữ cảnh của axit nucleic nghĩa là axit nucleic được đưa vào tế bào và và không tích hợp vào bộ gen của tế bào.

"Biến nạp ổn định" hoặc "được biến nạp ổn định" như được sử dụng ở đây nghĩa là axit nucleic được đưa vào tế bào và tích hợp vào bộ gen của tế bào. Như thế, axit nucleic tích hợp có khả năng được thừa kế bởi đời con của chúng, cụ thể hơn là, bởi đời con của nhiều thế hệ liên tiếp. Bộ gen như được sử dụng ở đây còn bao gồm bộ gen lạp thể, và do đó bao gồm tích hợp axit nucleic vào, ví dụ, bộ gen lạp lục. Biến nạp ổn định như được sử dụng ở đây cũng đề cập đến chuyển gen thu được ngoài nhiễm sắc thể, ví dụ, như tiểu nhiễm sắc thể.

Thuật ngữ "đưa vào ổn định" hoặc "được đưa vào ổn định" trong ngữ cảnh của axit nucleic được đưa vào tế bào nghĩa là axit nucleic đã được đưa vào được kết hợp

(tích hợp) ổn định vào bộ gen của tế bào, và do đó tế bào được biến nạp ổn định với axit nucleic.

"Việc đưa vào" khi nói tới polynucleotit quan tâm nghĩa là làm cho polynucleotit hiện diện trong cây theo cách mà polynucleotit này có thể tiếp cận phần bên trong của tế bào chủ (ví dụ, tế bào thực vật, tế bào vi khuẩn, tế bào nấm, và tương tự). Khi có nhiều hơn một polynucleotit được đưa vào, các polynucleotit này có thể được tập hợp thành một phần của cấu thành polynucleotit hoặc axit nucleic đơn, hoặc cấu thành polynucleotit độc lập hoặc axit nucleic, và có thể được đặt trên các vectơ biến nạp giống hoặc khác nhau. Hơn nữa, các polynucleotit này có thể được đưa vào tế bào chủ trong sự việc biến nạp đơn, trong sự việc biến nạp riêng lẻ, hoặc, ví dụ, là một phần của phương pháp kỹ thuật nhân gen.

“Được biến nạp”, “chuyển gen” hoặc “tái tổ hợp” dùng để chỉ sinh vật chủ như vi khuẩn hoặc thực vật mà phân tử axit nucleic khác loại được đưa vào. Phân tử axit nucleic có thể được tích hợp ổn định vào bộ gen của vật chủ hoặc phân tử axit nucleic cũng có thể hiện diện như một phân tử ngoài nhiễm sắc thể. Phân tử ngoài nhiễm sắc thể này có thể tự sao chép. Các tế bào, mô hoặc thực vật biến nạp được hiểu là không chỉ chứa sản phẩm cuối của quá trình biến nạp mà còn chứa cả thế hệ chuyển gen con cái của nó. Một vật chủ "không biến nạp", "không chuyển gen" hoặc "không tái tổ hợp” dùng để chỉ sinh vật kiểu dại, ví dụ, vi khuẩn hoặc thực vật mà không chứa phân tử axit nucleic khác loại.

Polynucleotit theo sáng chế có thể được biểu hiện trong các thực vật chuyển gen tạo ra sự tổng hợp sinh học của polypeptit diệt sinh vật gây hại tương ứng trong các thực vật chuyển gen. Bằng cách này, có thể tạo ra thực vật chuyển gen có tính kháng tăng cường đối với sinh vật gây hại (ví dụ, côn trùng). Đối với biểu hiện của chúng trong thực vật chuyển gen, polynucleotit theo sáng chế có thể cần cải biến và tối ưu hóa để biểu hiện trong thực vật. Mặc dù trong nhiều trường hợp, các gen từ cơ thể vi khuẩn có thể được biểu hiện ở thực vật ở các mức cao mà không cần cải biến, biểu hiện thấp trong thực vật chuyển gen có thể do các trình tự của polynucleotit vi khuẩn có các codon không được ưu tiên trong thực vật. Như đã biết trong lĩnh vực này, tất cả các sinh vật đều có ưu tiên riêng trong việc sử dụng codon, và các codon của trình tự nucleotit được mô tả theo sáng chế có thể được biến đổi để phù hợp với sự ưu tiên của thực vật, trong khi vẫn duy trì các axit amin được mã hoá bằng cách đó. Ngoài ra, biểu

hiện cao trong thực vật đạt được tốt nhất từ các trình tự mang mã có hàm lượng GC ít nhất khoảng 35%, nhiều hơn khoảng 45%, nhiều hơn khoảng 50%, và nhiều hơn khoảng 60%. Các polynucleotit vi khuẩn có hàm lượng GC thấp có thể biểu hiện kém hơn trong thực vật do sự tồn tại của các motif ATTTA có thể làm mất ổn định thông tin, và motif AATAAA có thể gây ra bổ sung chuỗi poly không thích hợp. Ngoài ra, mặc dù polynucleotit quan tâm có thể được biểu hiện tương xứng trong cả loài thực vật một lá mầm và hai lá mầm, polynucleotit có thể được cải biến để phá hủy các ưu tiên codon đặc hiệu và các ưu tiên về hàm lượng GC của các thực vật một lá mầm hoặc hai lá mầm khi các ưu tiên này tỏ ra khác (Murray *et al., Nucl. Acids Res.* 17:477-498 (1989)). Ngoài ra, trình tự nucleotit có thể được sàng lọc về sự tồn tại của các điểm nối ghép không đúng quy luật có thể gây cắt cụt thông tin. Mọi biến đổi cần được thực hiện trong các trình tự nucleotit như đã mô tả ở trên được tiến hành bằng cách sử dụng các kỹ thuật đã biết về gây đột biến định hướng điểm, PCR, và/hoặc và cấu trúc gen tổng hợp bằng cách dùng các phương pháp được mô tả trong, ví dụ, công bố đơn sáng chế châu Âu số 0385962, 03594721, và công bố đơn quốc tế số WO 93/07278.

Theo đó, theo một phương án của sáng chế, trình tự nucleotit *vip*3E (ví dụ, SEQ ID NO:4) có thể được thiết kế và tối ưu hóa để biểu hiện trong thực vật (SEQ ID NO:454) theo quy trình được bộc lộ trong Patent Mỹ số 5,625,136. Trong quy trình này, các codon được ưu tiên ở ngô, tức là, codon đơn mà mã hoá thường xuyên nhất axit amin trong ngô, được sử dụng. Codon được ưu tiên ở ngô đối với một axit amin cụ thể cần phải bắt nguồn, ví dụ như, từ các trình tự gen đã biết của ngô. Việc sử dụng codon của ngô cho 28 gen từ cây ngô được đưa ra, ví dụ, trong Murray *et al.,* (*Axit nucleic Research* 17:477-498 (1989)). Theo cách này, trình tự nucleotit có thể được tối ưu để biểu hiện ở thực vật bất kỳ. Người ta nhận thấy rằng tất cả hoặc một phần bất kỳ của trình tự nucleotit có thể được tối ưu hoá hoặc tổng hợp. Tức là, các trình tự được tối ưu hoá một phần hoặc tổng hợp cũng có thể được sử dụng.

Để khởi đầu dịch mã có hiệu quả, các trình tự liền kề với metionin khởi đầu có thể được cải biến. Ví dụ, chúng có thể được cải biến bằng cách gộp vào các trình tự đã biết là có hiệu quả trong thực vật. Joshi đã đề xuất một liên ứng thích hợp đối với thực vật (*Axit nucleic Research* 15:6643-6653 (1987)) và Clonetech đề xuất một khởi đầu dịch mã liên ứng nữa (1993/1994 catalog, trang 210). Các liên ứng này thích hợp để dùng với các trình tự nucleotit theo sáng chế. Các trình tự này được đưa vào cấu trúc

chứa các trình tự nucleotit, tùy vào và chứa ATG (trong khi để lại axit amin thứ hai không được cải biến), hoặc tuỳ vào và chứa GTC theo sau ATG (với khả năng cải biến axit amin thứ hai của gen chuyển).

Ngoài việc lựa chọn promotơ thích hợp, các cấu trúc để biểu hiện polypeptit diệt sinh vật gây hại trong thực vật có thể cần trình tự kết thúc phiên mã để gắn vào sau trình tự nucleotit khác loại. Một số trình tự kết thúc này đã được biết trong lĩnh vực này (ví dụ tml từ CaMV, E9 từ rbcS). Trình tự kết thúc bất kỳ hiện có đã biết là có chức năng trong thực vật có thể được sử dụng trong ngữ cảnh của sáng chế.

Nhiều trình tự khác có thể được kết hợp vào caset biểu hiện và/hoặc phân tử axit nucleic theo sáng chế. Các trình tự này bao gồm các trình tự đã được biết đến là tăng cường biểu hiện như các trình tự intron (ví dụ, từ Adhl và bronzel) và trình tự dẫn dắt virut (ví dụ, từ TMV, MCMV và AMV).

Theo một vài phương án, biểu hiện của polynucleotit theo sáng chế có thể nhắm đến các vị trí tế bào khác nhau trong thực vật. Theo một vài phương án, vị trí trong phần bào tan có thể được mong muốn, trong khi đó theo các phương án khác, vị trí trong một số nội bào quan lại có thể được ưu tiên. Vị trí dưới tế bào của các enzym được mã hoá chuyển gen được thực hiện bằng cách dùng các kỹ thuật đã biết rõ trong lĩnh vực này. Điển hình là, ADN mã hoá peptit của từ sản phẩm gen được định hướng ở bào quan đã biết được điều khiển và dung hợp vào đoạn trên của trình tự polynucleotit. Nhiều trình tự đích như vậy đã được biết với lục lạp và chức năng của chúng trong các cấu trúc dị hợp cũng đã được thể hiện. Biểu hiện của polynucleotit theo sáng chế cũng được định hướng đến thể lưới nội chất hoặc đến các không bào của tế bào chủ. Kỹ thuật để đạt được điều này đã được biết trong lĩnh vực này.

Quy trình để biến nạp thực vật là đã biết rõ và quen thuộc trong lĩnh vực này và đã được mô tả trong các tài liệu tham khảo. Các ví dụ không giới hạn về các phương pháp để biến nạp thực vật bao gồm biến nạp qua phát tán axit nucleic qua trung gian vi khuẩn (ví dụ, qua *Agrobacteria*), phát tán axit nucleic qua trung gian virut, silicon carbua hoặc phát tán axit nucleic qua trung gian axit nucleic whisker, phát tán axit nucleic qua trung gian liposom, vi tiêm, thả bom vi hạt, biến nạp qua trung gian canxi phosphat, biến nạp qua trung gian xyclodextrin, điện di, biến nạp qua trung gian hạt nano, siêu âm phá tế bào, thấm lọc, Hấp thụ axit nucleic qua trung gian PEG, cũng như bất kỳ cơ chế điện, hóa, vật lý (cơ học) và/hoặc sinh học mà tạo ra việc đưa axit

nucleic vào tế bào thực vật, bao gồm kết hợp bất kỳ của chúng. Các hướng dẫn chung về các phương pháp biến nạp thực vật khác nhau là đã biết trong lĩnh vực bao gồm Miki *et.*, ("Procedures for Introducing Foreign DNA into Plants" trong *Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology*, Glick, B. R. and Thompson, J. E., Eds. (CRC Press, Inc., Boca Raton, 1993), pages 67-88) và Rakowoczy-Trojanowska (*Cell. Mol. Biol. Lett.* 7:849-858 (2002)).

Đối với biến nạp qua trung gian *Agrobacterium*, các vectơ kép hoặc vectơ mang ít nhất một trình tự viền T-ADN thích hợp, trong khi đó đối với chuyển gen trực tiếp (ví dụ, thả bom hạt và tương tự) vectơ bất kỳ thích hợp và ADN thẳng chỉ chứa cấu trúc có lợi có thể được sử dụng. Trong trường hợp chuyển gen trực tiếp, biến nạp với các loài ADN đơn hoặc đồng biến nạp có thể được sử dụng (Schocher *et al., Biotechnology* 4:1093- 1096 (1986)). Đối với cả chuyển gen trực tiếp và chuyển gen qua trung gian *Agrobacterium*, biến nạp thường (nhưng không cần thiết) đảm bảo bằng dấu chọn lọc mà có thể là lựa chọn dương (Phosphomanoza Isomeraza), tạo ra tính kháng sinh (kanamyxin, hygromyxin hoặc methotrexat) hoặc chất diệt cỏ (glyphosat hoặc basta). Tuy nhiên, việc lựa chọn chỉ thị chọn lọc không thuộc phạm vi của sáng chế.

Biến nạp qua trung gian *Agrobacterium* thường sử dụng phương pháp để biến nạp vào thực vật, cụ thể là, thực vật hai lá mầm, vì hiệu quả biến nạp cao và vì tính hữu ích rộng với nhiều loài khác nhau. Biến nạp qua trung gian *Agrobacterium* thường liên quan đến chuyển vectơ kép mang ADN bên ngoài có lợi cho chủng *Agrobacterium* thích hợp mà có thể phụ thuộc vào phần bổ sung của gen *vir* được mang bởi tế bào chủ chủng *Agrobacterium* hoặc trên Ti lạp thể cùng tồn tại hoặc nhiễm sắc thể (Uknes *et al.,* (1993) *Plant Cell* 5:159-169). Chuyển vectơ kép tái tổ hợp vào *Agrobacterium* có thể được thực hiện bằng quy trình tiếp hợp ba thành phần sử dụng *Escherichia coli* mang vectơ kép tái tổ hợp, hỗ trợ chủng *E. coli* hỗ trợ có thể mang lạp thể có khả năng kích động vectơ kép tái tổ hợp đến chủng *Agrobacterium*. Tùy chọn, vectơ kép tái tổ hợp có thể được chuyển vào *Agrobacterium* nhờ biến nạp axit nucleic (Höfgen & Willmitzer (1988) *Axit nucleic Res.* 16:9877).

Biến nạp thực vật bằng *Agrobacterium* tái tổ hợp thường liên quan đến nuôi cấy đồng thời *Agrobacterium* với các cấy mô từ thực vật và theo phương pháp đã biết

trong lĩnh vực. Mô biến nạp được tạo ra trong môi trường chọn lọc có chất kháng sinh hoặc dấu kháng thuốc diệt cỏ giữa các viền T-ADN lạp thể kép.

Như được thảo luận ở trên, phương pháp khác để biến nạp vào thực vật, bộ phận của cây và tế bào thực vật liên quan đến việc đẩy hạt có hoạt tính sinh học hoặc trơ ở mô và tế bào cây. Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,945,050; 5,036,006 và 5,100,792. Thông thường, phương pháp liên quan đến việc đẩy hạt có hoạt tính sinh học hoặc trơ ở tế bào thực vật dưới các điều kiện hiệu quả để xâm nhập mặt ngoài của tế bào và đủ khả năng tạo ra được trong thế hệ con của nó. Khi các hạt trơ được sử dụng, vectơ có thể được đưa vào tế bào bằng cách phủ các hạt bằng các vectơ chứa axit nucleic có lợi. Tùy ý, tế bào hoặc thế bào có thể bao quanh bởi vectơ mà vectơ mang vào tế bào bằng cách theo hạt. Hạt có hoạt tính sinh học (ví dụ, tế bào nấm men khô, vi khuẩn khô hoặc vật ăn vi khuẩn, mỗi hạt chứa một hoặc nhiều axit nucleic cần đưa vào) còn có thể được đẩy vào mô thực vật.

Theo phương án khác, polynucleotit theo sáng chế có thể được biến nạp trực tiếp vào bộ gen lạp thể. Lợi ích chủ yếu của biến nạp lạp thể là các lạp thể thường có khả năng biểu hiệu gen vi khuẩn mà không làm cải biến đáng kể, và các lạp thể có khả năng biểu hiệu khung đọc mở phức dưới sự kiểm soát của promotơ đơn. Kỹ thuật biến nạp lạp thể được mô tả kỹ trong Patent Mỹ số 5,451,513, 5,545,817, và 5,545,818, trong công bố đơn quốc tế số WO 95/16783, và trong McBride *et al.,* (1994) *Proc. Nati. Acad. Sci. USA* 91, 7301-7305. Kỹ thuật cơ sở để biến nạp lạp lục liên quan đến việc đưa các vùng ADN lạp thể đã tách dòng trong đó vùng bên chứa một chỉ thị chọn lọc cùng với gen được mong muốn vào mô đích thích hợp, ví dụ, dùng súng bắn gen hoặc biến nạp tế bào trần (như canxi clorua hoặc biến nạp qua trung gian PEG). Các vùng bên 1-1,5kb, được gọi là các trình tự đích, tạo điều kiện cho tái tổ hợp tương đồng với bộ gen lạp thể và do đó cho phép thay thế hoặc cải biến các vùng cụ thể của hệ gen lạp thể. Ban đầu, các đột biến điểm trong các gen 16S rARN và rps12 của lạp lục tạo tính kháng với spectinomyxin và/hoặc streptomyxin được dùng làm chỉ thị chọn lọc cho biến nạp (Svab, Z., Hajdukiewicz, P., and Maliga, P. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 8526-8530; Staub, J. M., và Maliga, P. (1992) *Plant Cell* 4, 39-45). Sự có mặt các vị trí tách dòng giữa các chỉ thị này cho phép tạo ra vectơ định hướng lạp thể để đưa các gen lạ vào (Staub, J.M., and Maliga, P. (1993) *EMBO J.* 12, 601-606). Việc tăng đáng kể về tần suất biến nạp đạt được nhờ thay thế các gen kháng

kháng sinh r-protein hoặc rARN lặn bằng chỉ thị chọn lọc trội, gen vi khuẩn aadA mã hoá cho việc loại bỏ enzym cletoxy hóa spectinomyxin aminoglycosid- 3'-adenyltransferaza (Svab, Z., and Maliga, P. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 913-917). Trước đây, chỉ thị này được sử dụng thành công để biến nạp tần suất cao hệ gen lạp thể của tảo xanh *Chlamydomonas reinhardtii* (Goldschmidt-Clermont, M. (1991) *Nucl. Acids Res.* 19:4083-4089). Các chỉ thị chọn lọc khác hữu dụng cho biến nạp lạp thể đã được biết trong lĩnh vực và bao hàm trong phạm vi của sáng chế. Nói chung, cần đến khoảng 15-20 chu kỳ phân chia tế bào sau khi biến nạp để đạt được trạng thái đồng nhất. Biểu hiện lạp thể, mà trong đó các gen được chèn bởi tái tổ hợp tương đồng vào toàn bộ vài nghìn bản sao của bộ gen lạp thể vòng có trong mỗi tế bào thực vật, lợi dụng số lượng rất lớn bản sao lợi thế hơn các gen được biểu hiện trong nhân để cho phép các mức biểu hiện có thể dễ dàng vượt quá 10% tổng protein thực vật hoà tan. Theo một phương án, polynucleotit theo sáng chế có thể được chèn vào vectơ định hướng lạp thể và được biến nạp vào bộ gen lạp thể của vật chủ thực vật mong muốn. Do đó, có thể thu được thực vật đồng nhất đối với các bộ gen lạp thể chứa trình tự nucleotit của sáng chế có khả năng biểu hiện polynucleotit cao.

Các phương pháp chọn lọc để biến nạp, thực vật chuyển gen, tế bào thực vật và/hoặc nuôi cấy mô thực vật là quen thuộc trong lĩnh vực và có thể được sử dụng cho các phương án theo sáng chế được đề xuất ở đây.

Ngoài ra, như là đã biết rõ trong lĩnh vực này, thực vật chuyển gen nguyên vẹn có thể được tạo ra từ tế bào thực vật biến nạp, nuôi cấy mô thực vật và/hoặc thể nguyên sinh được nuôi cấy sử dụng một trong các phương pháp bất kỳ đã biết. Việc tạo cây trồng từ tế bào thực vật, nuôi cấy mô thực vật và/hoặc thể nguyên sinh được nuôi cấy được mô tả, ví dụ, trong Evans *et al.,* (*Handbook of Plant Cell Cultures,* Vol. 1, MacMilan Publishing Co. New York (1983)); và Vasil I. R. (ed.) (*Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants,* Acad. Press, Orlando, Vol. I (1984), và Vol. II (1986)).

Ngoài ra, các đặc tính di truyền được thiết kế vào hạt và thực vật chuyển gen, bộ phận của cây, và/hoặc tế bào thực vật theo sáng chế được mô tả ở trên có thể chuyển sang sinh sản hữu tính hoặc sinh trưởng sinh dưỡng và do đó có thể duy trì và nhân giống ở các cây con. Nhìn chung, việc duy trì và nhân giống để sử dụng các phương

pháp nông nghiệp đã biết đã được phát triển để phù hợp với mục đích cụ thể như thu hoạch, gieo hạt hoặc cày bừa.

Do đó, polynucleotit có thể được đưa vào thực vật, bộ phận của thực vật và/hoặc tế bào thực vật theo nhiều cách bất kỳ đã biết trong lĩnh vực, như được mô tả ở trên. Do đó, không có phương pháp cụ thể để đưa một hoặc nhiều polynucleotit vào cây được đề cập, mà phương pháp bất kỳ cho phép một hoặc nhiều polynucleotit đi vào bên trong của ít nhất tế bào thực vật có thể được sử dụng. Khi nhiều hơn một polynucleotit được đưa vào, polynucleotit tương ứng có thể được tập hợp thành một phần của phân tử axit nucleic đơn, hoặc phân tử axit nucleic riêng biệt, và có thể nằm trên các phân tử axit nucleic giống hoặc khác nhau. Theo đó, polynucleotit có thể được đưa vào tế bào quan tâm khi biến nạp đơn, khi biến nạp riêng rẽ, hoặc, ví dụ, trong thực vật, là một phần của quy trình nhân gen.

Theo một vài phương án của sáng chế, phân tử axit nucleic được đưa vào có thể được duy trì ổn định trong tế bào thực vật nếu nó được kết hợp vào đơn vị sao chép tự trị không nằm trong nhiễm sắc thể hoặc tích hợp vào (các) nhiễm sắc thể thực vật. Theo một cách khác, phân tử axit nucleic được đưa vào có thể ở trên vectơ không sao chép cực nhiễm sắc thể và được biểu hiện tạm thời hoặc hoạt động tạm thời. Khi có mặt trong vectơ không sao chép cực nhiễm sắc thể hoặc vectơ tích hợp vào nhiễm sắc thể, phân tử axit nucleic có thể có mặt trong caset biểu hiện ở thực vật. caset biểu hiện ở thực vật có thể chứa các trình tự điều hòa mà điều khiển biểu hiện gen trong tế bào thực vật, trong đó trình tự này liên kết hoạt động sao cho mỗi trình tự có thể hoàn thành nhiệm vụ của nó, ví dụ, kết thúc phiên mã bằng các tín hiệu polyadenyl hóa. Tín hiệu polyadenyl hóa điển hình ví dụ có thể bắt nguồn từ t-ADN của *Agrobacterium tumefaciens* như gen đã biết là octopin synthaza của Ti-lạp thể pTiACH5 (Gielen *et al., EMBO J.* 3:835 (1984)) hoặc tương đương chức năng của chúng, mà còn tất cả hoạt tính chức năng kết thúc trong thực vật là thích hợp. caset biểu hiện ở thực vật theo sáng chế có thể còn chứa các trình tự liên kết hoạt động khác giống như yếu tố tăng cường dịch mã như trình tự dẫn đầu chứa trình tự dẫn không dịch mã 5' từ virut khảm thuốc lá tăng cường tỷ lệ polypeptit so với ARN (Gallie *et al., Nucl. Acids Research* 15:8693-8711 (1987)).

Do đó, một số phương án theo sáng chế đề cập đến caset biểu hiện được thiết kế để biểu hiện polynucleotit và phân tử axit nucleic theo sáng chế. Như được sử dụng ở

đây, "caset biểu hiện" nghĩa là phân tử axit nucleic có ít nhất trình tự kiểm soát liên kết hoạt động với trình tự nucleotit mong muốn. Theo cách này, ví dụ, promotơ thực vật liên kết hoạt động với trình tự nucleotit để biểu hiện được đề xuất trong caset biểu hiện cho biểu hiện ở thực vật, bộ phận của thực vật và/hoặc tế bào thực vật.

Caset biểu hiện bao gồm trình tự nucleotit mong muốn có thể là khảm, nghĩa là ít nhất một trong các thành phần của nó là khác loại so với ít nhất một trong các thành phần khác của nó. caset biểu hiện có thể còn là tổ hợp mà có trong tự nhiên nhưng thu được dưới dạng tái tổ hợp hữu dụng cho biểu hiện khác loại. Tuy nhiên, thông thường, caset biểu hiện khác loại so với vật chủ, có nghĩa là trình tự axit nucleic cụ thể của caset biểu hiện không có trong tự nhiên trong tế bào chủ và phải đưa vào tế bào chủ hoặc tổ tiên của tế bào chủ bằng biến nạp.

Ngoài promotơ liên kết hoạt động với trình tự nucleotit theo sáng chế, caset biểu hiện theo sáng chế còn có thể bao gồm trình tự điều hòa khác. Như được sử dụng ở đây, "trình tự điều hòa" là trình tự nucleotit nằm phía trước promotơ (trình tự không mã hóa đầu 5'), trong hoặc phía sau (trình tự không mã hóa đầu 3') của trình tự mã hóa, và ảnh hưởng đến phiên mã, xử lý ARN hoặc tính ổn định, hoặc dịch mã trình tự mã hóa liên kết. Các trình tự điều hòa bao gồm, nhưng không giới hạn ở, yếu tố tăng cường, intron, trình tự dẫn dịch mã, các tín hiệu kết thúc, và trình tự tín hiệu bổ sung polyadenyl hóa.

Nhiều trình tự dẫn không dịch mã có nguồn gốc từ virut là đã biết để tăng cường biểu hiện gen. Đặc biệt là, các trình tự dẫn từ virut khảm thuốc lá (TMV, "trình tự ω-"), Virut gây bệnh vệt vàng ở ngô (MCMV) và virut khảm ở cỏ linh lăng (AMV) thể hiện hiệu quả trong việc tăng cường biểu hiện (Gallie *et al.,* (1987) *Axit nucleic Res.* 15:8693-8711; và Skuzeski *et al.,* (1990) *Plant Mol. Biol.* 15:65-79). Các trình tự dẫn khác là đã biết trong lĩnh vực bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đoạn dẫn picornavirt như dẫn vùng không mã hóa 5' encephalomyocarditis (EMCV) (Elroy-Stein *et al.,* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:6126-6130); đoạn dẫn potyvirut như dẫn virut ăn mòn thuốc lá (TEV) (Allison *et al.,* (1986) *Virology* 154:9-20); đoạn dẫn Virut Khảm gây lùn ở ngô (MDMV) (Allison *et al.,* (1986), *supra*); đoạn dẫn protein liên kết chuỗi nặng immunoglobulin ở người (BiP) (Macejak & Samow (1991) *Nature* 353:90-94); đoạn dẫn không dịch mã từ protein phủ mARN của AMV (AMV ARN 4; Jobling & Gehrke (1987) *Nature* 325:622-625); đoạn dẫn TMV khảm ở thuốc lá (Gallie *et al.,*

(1989) *Molecular Biology of ARN* 237-256); và đoạn dẫn MCMV (Lommel *et al.,* (1991) *Virology* 81:382-385). Cũng xem trong Della-Cioppa *et al.,* (1987) *Plant Physiol.* 84:965-968.

Caset biểu hiện còn có thể tùy ý bao gồm vùng kết thúc phiên mã và/hoặc dịch mã (có nghĩa là, vùng kết thúc) là chức năng trong thực vật. Nhiều vùng kết thúc phiên mã khác nhau sẵn có để dùng cho caset biểu hiện và chị trách nhiệm thúc phiên mã ngoài trình tự nucleotit khác loại mong muốn và polyadenyl hóa mARN chính xác. Vùng kết thúc có thể nguyên bản từ vùng khởi đầu phiên mã, cũng có thể nguyên bản từ vùng liên kết hoạt động trình tự nucleotit mong muốn, có thể nguyên bản từ cây chủ, hoặc có thể có nguồn gốc từ nguồn khác (có nghĩa là, lạ hoặc khác loại với promotơ, trình tự nucleotit mong muốn, cây chủ, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng). Yếu tố kết thúc phiên mã thích hợp bao gồm, nhưng không giới hạn ở, yếu tố kết thúc CAMV 35S, yếu tố kết thúc tml, yếu tố kết thúc nopalin synthaza và yếu tố kết thúc rbcs E9 đậu Hà Lan. Các vùng này có thể được sử dụng cả ở cây một lá mầm và cây hai lá mầm. Ngoài ra, có thể sử dụng vùng kết thúc phiên mã nguyên bản của trình tự mã hóa.

Caset biểu hiện còn có thể bao gồm trình tự nucleotit cho chỉ thị chọn lọc, có thể được sử dụng để chọn lọc cây, bộ phận của cây và/hoặc tế bào thực vật biến nạp. Như được sử dụng ở đây, "chỉ thị chọn lọc" nghĩa là trình tự nucleotit khi được biểu hiện phổ biến kiểu hình khác biệt với thực vật bộ phận của cây và/hoặc tế bào thực vật biểu hiện chỉ thị và do đó cho phép cây, bộ phận của cây và/hoặc tế bào thực vật biến nạp này phân biệt với cái khác không có chứa chỉ thị này. Trình tự nucleotit có thể mã hóa cho chỉ thị có thể chọn lọc được hoặc sàng lọc được, phụ thuộc và chỉ thị có đem lại đặc điểm có thể được chọn lọc bằng phương pháp hóa học, như bằng cách sử dụng chất chọn lọc (ví dụ, chất kháng sinh, chất diệt cỏ, hoặc tương tự), hoặc liệu chỉ dấu đơn giản là đặc điểm mà có thể xác định thông qua việc quan sát hoặc thử, như bằng cách sàng lọc (ví dụ, đặc điểm nơi cư trú R). Đương nhiên, nhiều ví dụ về chỉ thị chọn lọc thích hợp là đã biết trong lĩnh vực này và có thể được sử dụng trong caset biểu hiện được mô tả ở đây.

Các ví dụ về chỉ thị chọn lọc bao gồm, nhưng không giới hạn ở, trình tự nucleotit mã hóa *neo* hoặc *nptII*, tạo ra tính kháng kanamyxin, G418, và tương tự (Potrykus *et al.,* (1985) *Mol. Gen. Genet.* 199:183-188); trình tự nucleotit mã hóa *bar,* tạo ra tính

kháng phosphinothrixin; trình tự nucleotit mã hóa 5-enolpyruvylshikimat-3-phosphat (EPSP) synthaza biến đổi, tạo ra tính kháng glyphosat (Hinchee *et al.,* (1988) *Biotech.* 6:915-922); trình tự nucleotit mã hóa nitrilaza như *bxn* từ *Klebsiella ozaenae* tạo ra tính kháng bromoxynil (Stalker *et al.,* (1988) *Science* 242:419-423); trình tự nucleotit mã hóa axetolactat synthaza cải biến (ALS) tạo ra tính kháng imidazolinon, sulfonylurea hoặc chất hóa học ức chế ALS khác (đơn châu Âu số 154204); trình tự nucleotit mã hóa dihydrofolat reductaza kháng methotrexat (DHFR) (Thillet *et al.,* (1988) *J. Biol. Chem.* 263:12500-12508); trình tự nucleotit mã hóa dalapon dehalogenaza tạo ra tính kháng dalapon; trình tự nucleotit mã hóa manoza-6-phosphat isomeraza (còn gọi là phosphomanoza isomeraza (PMI)) tạo ra khả năng chuyển hóa manoza (Patent Mỹ số 5,767,378 và 5,994,629); trình tự nucleotit mã hóa anthranilat synthaza cải biến tạo ra tính kháng 5-metyl tryptophan; và/hoặc trình tự nucleotit mã hóa *hph* tạo ra tính kháng hygromycin. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có khả năng chọn chỉ thị chọn lọc thích hợp để dùng trong caset biểu hiện theo sáng chế.

Chỉ thị chọn lọc bổ sung bao gồm, nhưng không giới hạn ở, trình tự nucleotit mã hóa β-glucuronidaza hoặc *uidA* (GUS) mã hóa enzym trong đó các nền tạo sắc tố khác nhau là đã biết; trình tự nucleotit nơi cư trú R mã hóa sản phẩm mà điều hòa sự sản xuất chất màu anthoxyanin (màu đỏ) trong mô thực vật (Dellaporta *et al.,* "Molecular cloning of the maize R-nj allele by transposon-tagging with Ac" 263-282 In: *Chromosome Structure and Function: Impact of New Concepts*, 18th Stadler Genetics Symposium (Gustafson & Appels eds., Plenum Press 1988)); trình tự nucleotit mã hóa β-lactamaza, enzym mà các nền tạo sắc tố khác nhau là đã biết (ví dụ, PADAC, cephalosporin sắc tố) (Sutcliffe (1978) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:3737-3741); trình tự nucleotit mã hóa *xylE* mã hóa catechol dioxygenaza (Zukowsky *et al.,* (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80:1101-1105); trình tự nucleotit mã hóa tyrosinaza, enzym có khả năng oxy hóa tyrosin thành DOPA và dopaquinon, mà đến lượt nó tụ lại để tạo thành melanin (Katz *et al.,* (1983) *J. Gen. Microbiol.* 129:2703-2714); trình tự nucleotit mã hóa β-galactosidaza, enzym mà có nền tạo sắc tố; trình tự nucleotit mã hóa luciferaza (lux) cho phép dò phát quang sinh học (Ow *et al.,* (1986) *Science* 234:856-859); trình tự nucleotit mã hóa aequorin mà có thể được dùng trong dò phát quang sinh học cảm ứng canxi (Prasher *et al.,* (1985) *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 126:1259-1268); hoặc trình tự nucleotit mã hóa protein huỳnh quang xanh (Niedz *et*

al., (1995) *Plant Cell Reports* 14:403-406). Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có khả năng chọn chỉ thị chọn lọc thích hợp để dùng trong caset biểu hiện theo sáng chế.

Theo một vài phương án, caset biểu hiện theo sáng chế còn có thể bao gồm trình tự nucleotit mã hóa các đặc điểm mong muốn khác. Trình tự nucleotit này có thể được dồn lại với kết hợp của trình tự nucleotit để tạo cho cây, bộ phận của cây hoặc tế bào thực vật có kiểu hình mong muốn. Kết hợp dồn lại có thể được tạo ra bởi phương pháp bất kỳ bao gồm, nhưng không giới hạn ở, các cây lai chéo bằng hệ phương pháp thông thường bất kỳ, hoặc biến nạp gen. Nếu được dồn lại bằng các thực vật biến nạp gen, trình tự nucleotit có lợi có thể kết hợp ở thời điểm và trật tự bất kỳ. Ví dụ, thực vật chuyển gen chứa một hoặc nhiều tính trạng mong muốn có thể được sử dụng làm đích để đưa vào các tính trạng khác bằng biến nạp liên tiếp. Trình tự nucleotit bổ sung có thể được đưa vào đồng thời trong yếu tố đồng biến nạp với trình tự nucleotit, phân tử axit nucleic, kết cấu axit nucleic, và/hoặc chế phẩm theo sáng chế, với điều kiện có kết hợp các caset biểu hiện. Ví dụ, nếu hai trình tự nucleotit sẽ được đưa vào, chúng có thể kết hợp trong các tổ hợp riêng rẽ (*trans*) hoặc có thể kết hợp trong cùng tổ hợp (*cis*). Biểu hiện của polynucleotit có thể dẫn đến nhờ promotơ giống nhau hoặc promotơ khác nhau. Còn thấy rằng polynucleotit có thể dồn lại ở vị trí bộ gen mong muốn sử dụng hệ tái tổ hợp đặc hiệu tại chỗ. Xem, ví dụ, công bố đơn quốc tế số WO 99/25821; WO 99/25854; WO 99/25840; WO 99/25855 và WO 99/25853.

Caset biểu hiện còn có thể bao gồm trình tự mã hóa cho một hoặc nhiều polypeptit cho các tính trạng nông học mà cơ bản là có lợi cho công ty hạt giống, người trồng cây hoặc người xử lý hạt. Polypeptit quan tâm có thể là bất kỳ polypeptit mã hóa bởi trình tự nucleotit mong muốn. Các ví dụ không giới hạn về các polypeptit quan tâm là thích hợp để sản xuất thực vật các loại tạo ra các tính trạng nông học quan trọng như kháng chất diệt cỏ (đôi khi gọi là "kháng chất diệt cỏ"), kháng virut, kháng vi khuẩn gây bệnh thực vật, kháng côn trùng, kháng giun tròn, và/hoặc kháng nấm. Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 5,569,823; 5,304,730; 5,495,071; 6,329,504; và 6,337,431. Polypeptit còn có thể là nhân tố làm tăng sức sống của cây hoặc sản lượng của cây (bao gồm các đặc điểm cho phép cây phát triển ở các nhiệt độ, điều kiện đất và mức ánh sáng và lượng mưa khác nhau), hoặc nhân tố cho phép xác định cây biểu hiện đặc điểm có lợi (ví dụ, chỉ dấu chọn lọc, màu bao hạt, *v.v.*). Nhiều polypeptit mong muốn,

cũng như phương pháp tạo ra các polypeptit này trong thực vật, được mô tả, ví dụ, trong Patent Mỹ số 4,761,373; 4,769,061; 4,810,648; 4,940,835; 4,975,374; 5,013,659; 5,162,602; 5,276,268; 5,304,730; 5,495,071; 5,554,798; 5,561,236; 5,569,823; 5,767,366; 5,879,903, 5,928,937; 6,084,155; 6,329,504 và 6,337,431; cũng như công bố đơn sáng chế Mỹ số 2001/0016956. Cũng xem trên website tại địa chỉ lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/.

Polynucleotit tạo ra đề kháng/khả năng chịu chất diệt cỏ ức chế điểm phát triển hoặc mô phân sinh, như imidazalinon hoặc sulfonylurea có thể thích hợp theo một vài phương án theo sáng chế. Polynucleotit ví dụ trong loại này mã hóa đối với enzym ALS và AHAS đột biến như mô tả, ví dụ, trong Patent Mỹ số 5,767,366 và 5,928,937. Patent Mỹ số 4,761,373 và 5,013,659 đề cập đến cây chịu các chất diệt cỏ imidazalinon hoặc sulfonamit. Patent Mỹ số 4,975,374 đề cập đến tế bào thực vật và cây chứa axit nucleic mã hóa glutamin synthetaza (GS) đột biến kháng sự ức chế bởi chất diệt cỏ đã biết là ức chế GS, ví dụ, phosphinothrixin và methionin sulfoximin. Patent Mỹ số 5,162,602 bộc lộ cây kháng sự ức chế bởi chất diệt cỏ xyclohexanedion và axit aryloxyphenoxypropanoic. Sức đề kháng được tạo ra bởi axetyl coenzym A carboxylaza(ACCase) được biến đổi.

Các polypeptit được mã hóa bởi các trình tự nucleotit giúp kháng glyphosat cũng thích hợp với sáng chế. Xem, ví dụ, Patent Mỹ số 4,940,835 và Patent Mỹ số 4,769,061. Patent Mỹ số 5,554,798 bộc lộ cây ngô chuyển gen kháng glyphosat, mà sức đề kháng được tạo ra nhờ gen 5-enolpyruvyl-3-phosphoshikimat (EPSP) synthaza biến đổi.

Polynucleotit mã hóa đối với hợp chất kháng phosphono như glufosinat amoni hoặc phosphinothrixin, và pyridinoxy hoặc phenoxy propionic axit và xyclohexon cũng là thích hợp. Xem, công bố đơn châu Âu 0 242 246. Cũng xem, Patent Mỹ số 5,879,903, 5,276,268 và 5,561,236.

Polynucleotit thích hợp khác bao gồm các polynucleotit mã hóa để kháng chất diệt cỏ ức chế quang hợp, như triazin và benzonitril (nitrilaza). Xem, Patent Mỹ số 4,810,648. Polynucleotit thích hợp khác mã hóa để kháng chất diệt cỏ bao gồm các polynucleotit mã hóa để kháng 2,2-dichloropropionic axit, sethoxydim, haloxyfop, chất diệt cỏ imidazolinon, chất diệt cỏ sulfonylure, chất diệt cỏ triazolopyrimidin, chất

diệt cỏ s-triazin và bromoxynil. Cũng thích hợp là polynucleotit tạo ra tính kháng protox enzym, hoặc cung cấp đề kháng cải thiện đối với bệnh ở thực vật; sức chống chịu cải thiện đối với các điều kiện môi trường bất lợi (áp lực phi sinh học) bao gồm nhưng không giới hạn ở, hạn hán, quá lạnh, quá nóng, hoặc đất quá mặt hoặc quá axit hoặc quá kiềm; và biến đổi kiến trúc cây hoặc phát triển, bao gồm biến đổi về thời gian phát triển. Xem, ví dụ, công bố đơn Mỹ số 2001/0016956 và Patent Mỹ số 6,084,155.

Polynucleotit thích hợp bổ sung bao gồm các polynucleotit mã hóa các polypeptit diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng). Các polypeptit có thể được tạo ra với lượng đủ để kiểm soát, ví dụ, các côn trùng gây hại (ví dụ, lượng kiểm soát côn trùng). Biết rằng lượng tạo ra polypeptit diệt sinh vật gây hại ở cây cần để kiểm soát côn trùng hoặc sinh vật gây hại khác có thể biến đổi phụ thuộc vào thực vật, loại gây hại, yếu tố môi trường và tương tự. Polynucleotit hữu dụng để kháng côn trùng hoặc sinh vật gây hại bổ sung bao gồm, ví dụ, polypeptit mã hóa độc tố được xác định trong sinh vật *Bacillus*. Polynucleotit mã hóa độc tố *Bacillus thuringiensis* (Bt) từ các tiểu loài khác nhau được tách dòng và tách dòng tái tổ hợp được biết là có độc đối với ấu trùng lepidopteran, dipteran và coleopterinsect (ví dụ, các gen delta-nội độc tố như *Cry1Aa*, *Cry1Ab*, *Cry1Ac*, *Cry1B*, *Cry1C*, *Cry1D*, *Cry1Ea*, *Cry1Fa*, *Cry3A*, *Cry9A*, *Cry9C* và *Cry9B*; cũng như gen mã hóa protein diệt côn trùng thực vật như *Vip1*, *Vip2* và *Vip3*). Danh mục đầy đủ của các độc tố Bt có thể được tìm thấy trên website của Cơ sở dữ liệu Danh pháp độc tố *Bacillus thuringiensis* của Đại học Sussex (cũng xem, Crickmore *et al.,* (1998) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62:807-813).

Polypeptit thích hợp để tạo ra trong thực vật còn bao gồm các polypeptit tăng cường hoặc ngược lại tạo điều kiện chuyển hóa cây và/hoặc bộ phận của cây đã thu hoạch thành sản phẩm hữu dụng bán ra thị trường, bao gồm, ví dụ, hàm lượng carbohydrat tăng hoặc biến đổi và/hoặc phân phối, đặc tính lên men cải thiện, tăng hàm lượng dầu, tăng hàm lượng protein, tăng khả năng tiêu hóa, và tăng hàm lượng dược dinh dưỡng, ví dụ, tăng hàm lượng phytosterol, tăng hàm lượng tocopherol, tăng hàm lượng stanol và/hoặc tăng hàm lượng vitamin. Các polypeptit quan tâm còn bao gồm, ví dụ, polypeptit tạo ra hoặc góp phần làm giảm hàm lượng thành phần không mong muốn trong mùa vụ thu hoạch, ví dụ, axit phytic, hoặc enzym làm giảm đường. Bằng cách "tạo ra" hoặc "góp phần" thành polypeptit quan tâm có thể trực tiếp hoặc

gián tiếp góp phần vào sự tồn tại của đặc điểm có lợi (ví dụ, tăng cường phân giải xenluloza bằng cách sử dụng enzym xenluloza khác loại).

Theo một phương án, polypeptit góp phần cải thiện khả năng tiêu hóa thức ăn hoặc thực phẩm. Xylanaza là enzym hemixenluloza cải thiện sự hủy hoại thành tế bào thực vật, dẫn đến động vật sử dụng tốt hơn dinh dưỡng thực vật. Điều này làm tăng tốc độ sinh trưởng và chuyển hóa thức ăn. Tương tự, độ nhớt của thức ăn chứa trong xylan có thể giảm. Sản xuất các xylanaza khác loài trong tế bào thực vật còn có thể giúp chuyển hóa lignoxenluloza thành đường lên men được dùng trong sản xuất công nghiệp.

Nhiều xylanaza từ vi sinh vật là nấm và vi khuẩn đã được xác định và mô tả đặc điểm (xem, ví dụ, Patent Mỹ số 5,437,992; Coughlin *et al.,* (1993) "Proceedings of the Second TRICEL Symposium on *Trichoderma reesei* Cellulaza and Other Hydrolaza" Espoo; Souminen and Reinikainen, eds. (1993) *Foundation for Biotechnical and Industrial Fermentation Research* 8:125-135; công bố đơn Mỹ số 2005/0208178; và công bố đơn quốc tế số WO 03/16654). Cụ thể là, ba xylanaza đặc hiệu (XYL-I, XYL-II, và XYL-III) được xác định trong *T. reesei* (Tenkanen *et al.,* (1992) *Enzyme Microb. Technol.* 14:566; Torronen *et al.,* (1992) *Bio/Technology* 10:1461; và Xu *et al.,* (1998) *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49:718).

Theo phương án khác, polypeptit hữu dụng cho sáng chế có thể là enzym phân giải polysaccarit. Cây theo sáng chế tạo ra enzym này có thể hữu dụng cho tạo ra, ví dụ, thức ăn chăn nuôi lên men để xử lý sinh học. Theo một vài phương án, enzym hữu dụng cho quá trình lên men bao gồm alpha amylaza, proteaza, pullulanaza, isoamylaza, cellulaza, hemicellulaza, xylanaza, xyclodextrin glycotransferaza, lipaza, phytaza, laccaza, oxidaza, esteraza, cutinaza, enzym thủy phân bột nghiền hạt và glucoamylaza khác.

Enzym phân giải polysaccarit bao gồm: enzym làm giảm bột như α-amylaza(EC 3.2.1.1), glucuronidaza (E.C. 3.2.1.131); exo-1,4-α-D glucanaza như amyloglucosidaza và glucoamylaza (EC 3.2.1.3), β-amylaza (EC 3.2.1.2), α-glucosidaza (EC 3.2.1.20), và exo-amylaza khác; enzym khử nhánh tinh bột, như a) isoamylaza (EC 3.2.1.68), pullulanaza (EC 3.2.1.41), và tương tự; b) cellulaza như exo-1,4-3-cellobiohydrolaza (EC 3.2.1.91), exo-1,3-β-D-glucanaza (EC 3.2.1.39), β-

glucosidaza (EC 3.2.1.21); c) L-arabinaza, như endo-1,5-α-L-arabinaza (EC 3.2.1.99), α-arabinosidaza (EC 3.2.1.55) và tương tự; d) galactanaza như endo-1,4-β-D-galactanaza (EC 3.2.1.89), endo-1,3-β-D-galactanaza (EC 3.2.1.90), α-galactosidaza (EC 3.2.1.22), β-galactosidaza (EC 3.2.1.23) và tương tự; e) mannanaza, như endo-1,4-β-D-mannanaza (EC 3.2.1.78), β-mannosidaza (EC 3.2.1.25), α-mannosidaza (EC 3.2.1.24) và tương tự; f) xylanaza, như endo-1,4-β-xylanaza (EC 3.2.1.8), β-D-xylosidaza (EC 3.2.1.37), 1,3-β-D-xylanaza, và tương tự; và g) các enzym khác như α-L-fucosidaza (EC 3.2.1.51), α-L-rhamnosidaza (EC 3.2.1.40), levanaza (EC 3.2.1.65), inulanaza (EC 3.2.1.7), và tương tự.

Các enzym khác mà có thể được sử dụng theo sáng chế bao gồm proteaza, như proteaza nấm và vi khuẩn. Proteaza nấm bao gồm, nhưng không giới hạn ở, loại thu được từ *Aspergillus, Trichoderma, Mucor* và *Rhizopus*, như *A. niger, A. awamori, A. oryzae* và *M. miehei*. Theo một vài phương án, polypeptit theo sáng chế có thể là enzym xellobiohydrolaza (CBH) (EC 3.2.1.91). Theo một phương án, xellobiohydrolaza enzym có thể là CBH1 hoặc CBH2.

Các enzym khác hữu ích theo sáng chế bao gồm, nhưng không giới hạn ở, hemicellulaza, như mannaza và arabinofuranosidaza (EC 3.2.1.55); ligninaza; lipaza (ví dụ, E.C. 3.1.1.3), glucoza oxidaza, pectinaza, xylanaza, transglucosidaza, alpha 1,6 glucosidaza (ví dụ, E.C. 3.2.1.20); esteraza như esteraza của axit ferulic (EC 3.1.1.73) và esteraza của axetyl xylan (EC 3.1.1.72); và cutinaza (ví dụ E.C. 3.1.1.74).

Như được sử dụng ở đây, "thực vật" nghĩa là thực vật bất kỳ và do đó bao gồm, ví dụ, cây hạt kín bao gồm cả cây một lá mầm và cây hai lá mầm, cây hạt trần, rêu, cây dương xỉ và/hoặc khóm cây dương xỉ. Theo một vài phương án của sáng chế, thực vật từ hạt. Ngoài ra, "thực vật" theo sáng chế là cây bất kỳ ở giai đoạn phát triển bất kỳ.

Như được sử dụng ở đây, thuật ngữ "bộ phận của thực vật" hoặc "vật liệu thực vật" bao gồm nhưng không giới hạn ở, phôi, phấn hoa, noãn, hạt, lá, thân, rễ, hoa hoặc các phần của hoa, cành, quả, nhân, tai quả, lõi, vỏ, cuống hoa, rễ, đầu rễ, bao phấn, phấn hoa, tế bào trứng, hợp tử, cành giâm, tế bào thực vật bao gồm tế bào thực vật nguyên vẹn trong thực vật và/hoặc các phần của thực vật, tế bào trần, mô thực vật, nuôi cấy mô tế bào thực vật, mô sẹo thực vật, lùm cây, hoặc phần hoặc sản phẩm bất kỳ của thực vật. Ngoài ra, như được sử dụng ở đây, "tế bào thực vật" dùng để chỉ đơn vị cấu

trúc và sinh vật lý của thực vật bao gồm tế bào trần và thành tế bào. Do đó, theo một vài phương án, tế bào thực vật theo sáng chế có thể có dạng tế bào đơn được phân lập hoặc có thể là tế bào nuôi cấy hoặc có thể là một phần của đơn bị tổ chức cao hơn như, ví dụ, mô thực vật hoặc cơ quan thực vật.

"Thể nguyên sinh" là tế bào thực vật được phân lập không có thành tế bào hoặc chỉ có các bộ phận của thành tế bào.

"Nuôi cấy tế bào thực vật" nghĩa là nuôi cấy các đơn vị của thực vật như, ví dụ, thể nguyên sinh, tế bào nuôi cấy tế bào, tế bào trong mô thực vật, phấn hoa, ống phấn hoa, noãn, túi phôi, hợp tử và phôi ở các giai đoạn phát triển khác nhau.

Như được sử dụng ở đây, "cơ quan thực vật" là cấu trúc phân biệt và nhìn thấy và bộ phận phân biệt của cây như rễ, thân, lá, chồi hoa, hoặc phôi.

"Mô thực vật" như được sử dụng ở đây là nhóm các tế bào thực vật được tổ chức trong đơn vị cấu trúc và chức năng. Mô thực vật bất kỳ trong giải phẫu hoặc trong nuôi cấy cũng bao gồm trong thật ngữ này. Thuật ngữ này bao gồm, nhưng không giới hạn ở, tổng thể thực vật, cơ quan thực vật, hạt của thực vật, nuôi cấy mô và bất kỳ nhóm các tế bào thực vật được tổ chức thành các đơn vị cấu trúc và/hoặc chức năng. Việc sử dụng các thuật ngữ này kết hợp với, hoặc không có mặt, dạng đặc trưng bất kỳ của mô thực vật như được liệt kê ở trên hoặc bao gồm dạng khác theo định nghĩa ngày không nhằm loại trừ bất kỳ dạng nào của mô thực vật.

Các ví dụ không giới hạn của cây có thể bao gồm cây rau, bao gồm ác ti sô, xu hào, cải xoong, tỏi tây, măng tây, rau xà lách (ví dụ, đầu, lá, lá dài), rau bó xôi, khoai môn, dưa (ví dụ, dưa vàng, dưa hấu, dưa lưới, dưa ngọt, dưa đỏ), cây cải bắp (ví dụ, cải brussel, bắp cải, súp lơ, súp lơ xanh, cải xanh, cải quăn, cải thảo, cải bó xôi), rau ca đông, cà rốt, cải kim chi, đậu bắp, hành, cần tây, mùi tây, đậu xanh, củ cải vàng, rau diếp xoăn, hạt tiêu, khoai tây, bầu bí (ví dụ, bầu nhỏ, dưa chuột, bầu, bí đao, bí ngô), củ cải đỏ, củ hành khô, củ cải nghệ, cà tím (còn gọi là brinjal), rau diếp củ, rau diếp mạ, củ hẹ, rau diếp quăn, tỏi, rau chân vịt, hành tươi, bí đao, rau xanh, của cải (củ cải đường và củ cải khô), khoai lang, cải cầu vồng, cải ngựa, cà chua, cải củ, và các loại gia v; quả và/hoặc cây leo như táo, mơ, sơ ri, xuân đào, đào, mận, mận khô, anh đào, mộc qua, quả hạnh, hạt dẻ, hạt phỉ, quả hồ đào, quả hồ trăn, quả óc chó, quả có múi, quả việt quất, quả mâm xôi lai, nam việt quất, nho tây, dâu đỏ, quả mâm xôi, dâu đen, mâm xôi, nho, lê, chuối, kiwi, quả hồng, quả lựu, dứa, Quả nhiệt đới, táo tây, dưa,

xoài, đu đủ, và vải; các loại thực vật trên cánh đồng như cây xa trục thảo, cây linh thảo, cây anh thảo, thảo dược, ngô (ngô đồng, ngô ngọt, bỏng ngô), hoa bia, cây jojoba, lạc, lúa, cây rum, các loại cây hạt nhỏ (lúa mạch, yến mạch, lúa mạch, lúa mỳ, etc.), lúa miến, thuốc lá, bông gạo, cây họ đậu (đậu, đậu lăng, đậu Hà Lan, đậu tương), cây lấy dầu (cây cải dầu, mù tạt, cây anh túc, cây ô liu, hướng dương, dừa, cây thầu dầu, hạt ca cao, đậu phộng), *cây Arabidopsis*, cây lấy sợi (bông, cây gai, gai dầu, cây đay), họ nguyệt quế (quế, long não), hoặc cây như cà phê, mía, chè và cao su tự nhiên; và/hoặc thực vật trong chậu như cây lấy hoa, xương rồng, cây thuộc họ trường sinh và/hoặc cây cảnh, cũng như các loại thực vật rừng (cây tán rộng, và cây cảnh như cây họ tùng bách), cây ăn quả, cây cảnh, và cây lấy hạt, cũng như cây bụi và các loại cây chiết ghép.

Theo một vài phương án cụ thể, thực vật theo sáng chế có thể là lúa miến, lúa mỳ, hướng dương, cà chua, cải bắp, bông, lúa, đậu tương, củ cải đường, mía, thuốc lá, lúa mạch, cây hạt cải dầu và ngô. Theo các phương án khác, thực vật là ngô.

Một khi polynucleotit mong muốn được biến nạp thành loài thực vật cụ thể, có thể nhân giống loài này hoặc chuyển thành các dạng khác của loài tương tự, cụ thể là bao gồm các dạng kinh doanh được, sử dụng các kỹ thuật sinh sản truyền thống.

Các khía cạnh bổ sung của sáng chế bao gồm các sản phẩm thu hoạch được lấy từ thực vật chuyển gen và/hoặc các bộ phận của nó theo sáng chế, cũng như sản phẩm chế biến được tạo ra từ các sản phẩm thu hoạch này. Các sản phẩm thu hoạch có thể là tổng thể cây hoặc bộ phận bất kỳ của cây, như được mô tả ở đây. Do đó, theo một vài phương án, các ví dụ không giới hạn của sản phẩm thu hoạch bao gồm hạt, quả, hoa hoặc bộ phận của chúng (ví dụ, bao phấn, nhụy, và tương tự), lá, thân, và tương tự. Theo các phương án khác, sản phẩm xử lý bao gồm, nhưng không giới hạn ở, bột, thịt, dầu, tinh bột, ngũ cốc, và tương tự được sản xuất từ hạt thu hoạch theo sáng chế, trong đó hạt này bao gồm phân tử axit nucleic/polynucleotit/trình tự nucleotit theo sáng chế.

Theo các phương án khác, sáng chế đề xuất phần chiết từ hạt chuyển gen và/hoặc thực vật chuyển gen theo sáng chế, trong đó phần chiết này bao gồm phân tử axit nucleic, polynucleotit, trình tự nucleotit hoặc polypeptit theo sáng chế. Phần chiết từ cây hoặc bộ phận của cây có thể được làm theo các quy trình đã biết trong lĩnh vực

(Xem, de la Torre *et al., Food, Agric. Environ.* 2(1):84-89 (2004); Guidet, *Axit nucleic Res.* 22(9): 1772-1773 (1994); Lipton *et al., Food Agric. Immun.* 12:153-164 (2000)).

Khía cạnh khác nữa theo sáng chế là chế phẩm chứa polypeptit được thiết kế theo sáng chế trong chất mang nông dụng.

Như được sử dụng ở đây "chất mang nông dụng" có thể bao gồm vật liệu tự nhiên hoặc nhân tạo, hữu cơ hoặc vô cơ được kết hợp với thành phần hoạt tính để giúp áp dụng cho thực vật, hoặc bộ phận của chúng. Chất mang nông dụng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, thành phần trơ, chất phân tán, chất hoạt động bề mặt, tá dược, chất cản, chất dán, chất kết dính, hoặc kết hợp của chúng, có thể được sử dụng trong chế phẩm nông nghiệp. Chất mang nông dụng khác có thể là thực vật chuyển gen hoặc bộ phận của thực vật.

Các chế phẩm này có thể được áp dụng theo cách bất kỳ mang các polypeptit diệt sinh vật gây hại tiếp xúc với sinh vật gây hại. Theo đó, chế phẩm có thể được áp dụng lên bề mặt của thực vật hoặc bộ phận của thực vật, bao gồm hạt, lá, hoa, thân, cuống, rễ, và tương tự.

Theo các phương án bổ sung, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra polypeptit có diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) hoạt tính kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu, phương pháp này bao gồm: biểu hiện poynucleotit và/hoặc phân tử axit nucleic theo sáng chế trong tế bào chủ chuyển gen không phải của người, nhờ đó tạo ra polypeptit có diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) hoạt tính kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu. Theo một vài phương án, tế bào chủ chuyển gen không phải của người là tế bào thực vật. Theo các phương án khác, tế bào chủ chuyển gen không phải của người là tế bào vi khuẩn. Theo các phương án khác nữa, tế bào chủ chuyển gen không phải của người là tế bào nấm men.

Theo một vài phương án, polypeptit theo sáng chế có hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng ít nhất một côn trùng bổ sung (ngoài sâu đục thân ngô châu Âu), trong đó côn trùng bổ sung bao gồm, nhưng không giới hạn ở, *Plutella xylostella* (sâu tơ), *Spodoptera frugiperda* (sâu xanh mùa thu), *Agrotis ipsilon* (sâu xám), *Agrotis orthogonia* (sâu ngài xanh xám phương Tây), *Striacosta albicosta* (sâu ngài hại đậu tương phương Tây), *Helicoverpa zea* (sâu đục quả bông), *Heliothis virescens* (sâu đục chồi ở cây thuốc lá), *Spodoptera exigua* (sâu xanh da láng), *Helicoverpa punctigera*

(sâu đục chồi tự nhiên), *Helicoverpa armigera* (sâu đục quả bông), *Manduca sexta* (sâu sừng thuốc lá), *Trichoplusia ni* (sâu đo trên cải bắp), *Pectinophora gossypiella* (sâu đục quả màu hồng), *Diatraea grandiosella* (sâu đục thân ngô Tây Nam), *Diatraea saccharalis* (sâu đục thân mía), *Elasmopalpus lignosellus* (sâu nhỏ đục thân ngô), *Psuedoplusia includens* (sâu đo trên cây đậu tương), *Anticarsia gemmatalis* (sâu bướm hại đậu mèo rừng), *Plathypena scabra* (sâu xanh hại cỏ ba lá), và *Cochylis hospes* (sâu bướm hại hướng dương có viền lưng), và kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo khía cạnh khác, sáng chế đề xuất phương pháp tạo ra thực vật chuyển gen kháng sinh vật gây hại (ví dụ, kháng côn trùng), bao gồm: đưa vào thực vật phân tử axit nucleic tái tổ hợp chứa trình tự nucleotit mã hóa polypeptit theo sáng chế, trong đó trình tự nucleotit được biểu hiện trong thực vật, nhờ đó giúp cho thực vật kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu, và tạo ra thực vật chuyển gen kháng sinh vật gây hại (ví dụ, kháng côn trùng). Theo một vài phương án, phân tử axit nucleic tái tổ hợp liên kết hoạt động với trình tự promotơ khác loại. Theo một vài phương án, thực vật chuyển gen kháng sinh vật gây hại kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu như so với cây đối chứng không có phân tử axit nucleic tái tổ hợp đã nêu.

Theo một số khía cạnh của sáng chế, thực vật chuyển gen chứa trình tự nucleotit hoặc phân tử axit nucleic theo sáng chế kháng sinh vật gây hại so với kháng cùng sinh vật gây hại ở cây đối chứng không chứa (các) phân tử axit nucleic hoặc (các) trình tự nucleotit được đưa vào theo sáng chế. Theo các khía cạnh khác của sáng chế, thực vật chuyển gen bao gồm trình tự nucleotit hoặc phân tử axit nucleic theo sáng chế kháng sinh vật gây hại (ví dụ, côn trùng gây hại và/hoặc giun tròn gây hại) so với kháng cùng sinh vật gây hại trong cây đối chứng không chứa (các) phân tử axit nucleic hoặc (các) trình tự nucleotit được đưa vào theo sáng chế.

Theo một vài phương án, thực vật chuyển gen theo sáng chế kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu còn kháng ít nhất một côn trùng bổ sung, trong đó côn trùng bổ sung bao gồm, nhưng không giới hạn ở, *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu), *Plutella xylostella* (sâu tơ), *Spodoptera frugiperda* (sâu xanh mùa thu), *Agrotis ipsilon* (sâu xám), *Agrotis orthogonia* (sâu ngài xanh xám phương Tây), *Striacosta albicosta* (sâu ngài hại đậu tương phương Tây), *Helicoverpa zea* (sâu đục quả bông), *Heliothis virescens* (sâu đục chồi ở cây thuốc lá), *Spodoptera exigua* (sâu xanh da láng), *Helicoverpa punctigera* (sâu đục chồi tự nhiên), *Helicoverpa armigera* (sâu đục quả

bông), *Manduca sexta* (sâu sừng thuốc lá), *Trichoplusia ni* (sâu đo trên cải bắp), *Pectinophora gossypiella* (sâu đục quả màu hồng), *Diatraea grandiosella* (sâu đục thân ngô Tây Nam), *Diatraea saccharalis* (sâu đục thân mía), *Elasmopalpus lignosellus* (sâu nhỏ đục thân ngô), *Psuedoplusia includens* (sâu đo trên cây đậu tương), *Anticarsia gemmatalis* (sâu bướm hại đậu mèo rừng), *Plathypena scabra* (sâu xanh hại cỏ ba lá), và *Cochylis hospes* (sâu bướm hại hướng dương có viền lưng), hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo các phương án khác, phương pháp kiểm soát ít nhất các côn trùng đục thân ngô châu Âu được đề xuất, phương pháp này bao gồm việc phân phối cho côn trùng lượng có hiệu quả của polypeptit được thiết kế theo sáng chế.

"Phân phối" polypeptit Vip nghĩa là polypeptit đến tiếp xúc với côn trùng hoặc côn trùng gây hại, gây ra tác dụng độc tính và kiểm soát côn trùng. Để có hiệu quả, polypeptit Vip trước tiên được côn trùng ăn vào miệng. Tuy nhiên, polypeptit Vip có thể được phân phối cho côn trùng theo nhiều cách đã biết. Các cách để phân phối polypeptit qua đường miệng cho côn trùng bao gồm, nhưng không giới hạn ở, đưa polypeptit (1) vào trong thực vật chuyển gen, trong đó côn trùng ăn (tiêu hóa) một hoặc nhiều bộ phận của thực vật chuyển gen, nhờ đó ăn vào bụng polypeptit được biểu hiện trong thực vật chuyển gen; (2) trong (các) chế phẩm protein được điều chế mà có thể được áp dụng hoặc kết hợp vào, ví dụ, môi trường phát triển của sinh vật; (3) trong (các) chế phẩm protein mà có thể được áp dụng lên bề mặt, ví dụ, phun, lên bề mặt bộ phận của cây, sau đó côn trùng ăn vào bụng vì côn trùng ăn một hoặc nhiều bộ phận của cây được phun; (4) hệ thống mồi bả; (5) qua tiêm vào côn trùng; hoặc (6) bất kỳ hệ thống phát tán độc tố nào khác đã được biết đến trong lĩnh vực. Do đó, phương pháp phân phối bất kỳ qua đường miệng đến côn trùng có thể được sử dụng để phân phối các polypeptit diệt sinh vật gây hại theo sáng chế. Theo một vài phương án cụ thể, polypeptit theo sáng chế được phân phối qua đường miệng đến côn trùng, trong đó côn trùng ăn vào bụng một hoặc nhiều bộ phận của thực vật chuyển gen.

Theo các phương án khác, polypeptit được thiết kế theo sáng chế được phân phối đến côn trùng qua đường miệng, trong đó côn trùng ăn vào bụng một hoặc nhiều bộ phận của được phun chế phẩm chứa polypeptit theo sáng chế. Phân phối chế phẩm theo sáng chế lên bề mặt cây có thể được thực hiện bằng cách sử dụng phương pháp bất kỳ đã biết đối với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực để áp dụng hợp chất,

chế phẩm, công thức và tương tự lên bề mặt cây. Một số ví dụ không giới hạn phân phối hoặc cho tiếp xúc cây hoặc bộ phận của nó bao gồm phun, rải bụi, rải, tung rắc, sương mù, tán nhỏ, truyền phát, ngâm, bơm vào đất, kết hợp với đất, làm ướt sũng (ví dụ, rễ, xử lý đất), nhúng, rót, bao, thấm qua lá hoặc thân, bọc hoặc xử lý hạt, và tương tự, và kết hợp của chúng. Các quy trình này và quy trình khác để cho cây hoặc bộ phận của nó tiếp xúc với (các) hợp chất, (các) chế phẩm hoặc (các) công thức là đã biết với người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này này.

Theo một vài phương án theo sáng chế, phương pháp tạo ra polypeptit diệt sinh vật gây hại có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích được đề xuất, phương pháp này bao gồm: a) sắp thẳng hàng nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, hoặc hơn) trình tự axit amin của các polypeptit có ít nhất 80% tương đồng với trình tự khác, trong đó ít nhất một trong số các polypeptit bộc lộ ít nhất độc tố vừa phải và ít nhất trình tự khác của polypeptit bộc lộ độc tố thấp hoặc không có độc tố đối với sinh vật và/hoặc tế bào đích; b) xác định ít nhất một gốc axit amin không giống nhau giữa ít nhất hai trong số các trình tự axit amin được sắp thẳng hàng của (a); c) thế gốc axit amin cho ít nhất một gốc axit amin được xác định trong bước (b) để tạo ra trình tự axit amin cải biến của polypeptit cải biến; d) xác định mức độ hoạt tính diệt sinh vật gây hại của polypeptit cải biến được tạo ra ở bước (c) kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích; và e) chọn lọc polypeptit cải biến của (d) có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích so với polypeptit không được cải biến với cùng (các) chất thế axit amin, nhờ đó tạo ra polypeptit có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích.

Theo các phương án bổ sung theo sáng chế, phương pháp tạo ra polypeptit Vip có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích (ví dụ tế bào côn trùng hoặc côn trùng) được đề xuất, phương pháp này bao gồm: a) sắp thẳng hàng nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, hoặc hơn) trình tự axit amin của các polypeptit Vip có độ đồng nhất ít nhất 80% so với trình tự khác, trong đó ít nhất một trong số các polypeptit Vip bộc lộ ít nhất độc tố vừa phải và ít nhất trình tự khác của các polypeptit Vip bộc lộ độc tố thấp hoặc không có độc tố đối với sinh vật và/hoặc tế bào đích; b) xác định ít nhất một gốc axit amin không giống nhau giữa ít nhất hai trình tự axit amin Vip được sắp thẳng hàng của (a); c) thế gốc axit amin cho ít nhất một gốc axit amin được xác định trong bước (b) để tạo ra trình tự axit amin Vip3

cải biến của polypeptit Vip cải biến; d) xác định mức độ hoạt tính diệt sinh vật gây hại của polypeptit Vip cải biến được tạo ra ở bước (c) kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích; và e) chọn lọc polypeptit Vip cải biến của (d) có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích so với polypeptit Vip không được cải biến bằng cùng (các) chất thế axit amin, nhờ đó tạo ra polypeptit Vip có hoạt tính diệt sinh vật gây hại cải thiện kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích. Theo một vài phương án, polypeptit Vip là polypeptit Vip3. Như được lưu ý ở trên, polypeptit Vip3 có thể được xác định là polypeptit *Bacillus* có kích thước hạt khoảng 80-88 kDa với tín hiệu tiết ra đầu N bảo tồn cao không được xử lý (ví dụ, được cắt bỏ) trong khi tiết ra *Bacillus* và bao gồm trình tự axit amin của IYGFATGIKDI (SEQ ID NO:114).

Theo một vài phương án theo sáng chế, xác định ít nhất một gốc axit amin không giống nhau giữa ít nhất hai trình tự axit amin đã sắp thẳng hàng (ví dụ, trình tự axit amin Vip) của (a) bao gồm xác định vị trí axit amin thiết yếu, vị trí axit amin hiệp đồng, vị trí axit amin hiệp đồng ẩn, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng, trong các trình tự axit amin đã sắp thẳng hàng của bước (a) (ví dụ trong các trình tự axit amin Vip hoặc Vip3).

Theo các khía cạnh bổ sung, các trình tự axit amin thẳng hàng (ví dụ, trình tự axit amin Vip hoặc Vip3) có thể có độ đồng nhất ít nhất khoảng 80% (ví dụ, ít nhất khoảng 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, 99,9% và/hoặc dải bất kỳ trong đó, và/hoặc kết hợp bất kỳ của chúng) với trình tự khác. Theo một vài phương án, ít nhất một trong số các trình tự axit amin đã sắp thẳng hàng không có hoặc có tính độc rất thấp đối với sinh vật đích.

"Độc tố vừa phải", "hoạt tính diệt sinh vật gây hại vừa phải" hoặc "hoạt tính diệt côn trùng vừa phải" như được sử dụng ở đây đề cập đến mức độc tố ở đó sinh vật đích (ví dụ, côn trùng) dễ (ví dụ, bị gây chết hoặc giảm sinh trưởng khoảng 50%) ở nồng độ polypeptit thử tiêu chuẩn (ví dụ, 3µg/cm^3). "không có hoặc có hoạt tính rất thấp" như được sử dụng ở đây nghĩa là polypeptit không có ảnh hưởng xấu đến sinh vật đích (ví dụ côn trùng) hoặc polypeptit tạo ra ít hơn 50% ức chế tăng trưởng ở nồng độ polypeptit tiêu chuẩn.

Như được sử dụng ở đây, "hiệp đồng ẩn" hoặc "các vị trí hiệp đồng ẩn" dùng để chỉ nhóm các gốc trong trình tự axit amin của polypeptit diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng). Đây là các vị trí axit amin trong đó một hoặc nhiều polypeptit có ít nhất hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) vừa phải sở hữu các gốc khác nhau và trong đó một hoặc nhiều polypeptit không có hoặc có hoạt tính rất ít diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) có gốc đồng nhất ở cùng vị trí với một trong số một hoặc nhiều polypeptit với ít nhất hoạt tính diệt sinh vật gây hại vừa phải. Bằng ví dụ và không giới hạn, N312 của Vip3C ở vị trí hiệp đồng ẩn. Vip3B có axit aspartic ở vị trí 312, nhưng Vip3A có asparagin (D) ở vị trí này. Nói theo kiểu công thức hóa, C=A≠B. Bằng ví dụ và không giới hạn, K661 của Vip3C cũng ở vị trí hiệp đồng ẩn. Thay vì lysin, Vip3B và Vip3A có asparagin ở vị trí này. Nói theo kiểu công thức hóa, B=A≠C.

"Thiết yếu" hoặc "các vị trí thiết yếu" dùng để chỉ nhóm các gốc trong trình tự axit amin của polypeptit diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng). Đây là các vị trí axit amin trong đó một hoặc nhiều polypeptit có ít nhất hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) vừa phải có gốc đồng nhất và trong đó một hoặc nhiều polypeptit không có hoặc có hoạt tính rất ít diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) có gốc khác nhau ở cùng vị trí. Bằng ví dụ và không giới hạn, A257 của Vip3C là vị trí thiết yếu. Vip3B cũng có alanin ở vị trí 257, nhưng Vip3A có threonin ở vị trí này. Nói theo kiểu công thức hóa, B=C≠A.

Như được sử dụng ở đây, "hiệp đồng" hoặc "vị trí hiệp đồng" dùng để chỉ nhóm các gốc trong trình tự axit amin của polypeptit diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng). Đây là các vị trí axit amin trong đó một hoặc nhiều polypeptit có ít nhất hoạt tính diệt sinh vật gây hại (ví dụ, diệt côn trùng) vừa phải không có các gốc đồng nhất ở cùng vị trí so với nhau và so với một hoặc nhiều polypeptit không có hoặc có hoạt tính diệt sinh vật gây hại rất thấp (ví dụ, diệt côn trùng) kháng sinh vật thử. Bằng cách ví dụ và không giới hạn ở, E760 của Vip3C là vị trí hiệp đồng. Vip3A có lysin ở vị trí 760, trong khi Vip3B có alanin ở vị trí này. Theo kiểu công thức hóa, B≠C≠A.

Khả năng nhắm đích và kiểm soát một hoặc nhiều sinh vật trong khi không làm ảnh hưởng đến sinh vật không phải là đích có thể được mong đợi. Do đó, theo một vài phương án, sáng chế bộc lộ phương pháp làm giảm hoạt tính diệt sinh vật gây hại của polypeptit Vip đối với sinh vật hoặc tế bào đích cụ thể. Do đó, sáng chế bộc lộ phương

pháp tạo ra polypeptit Vip có hoạt tính diệt sinh vật gây hại giảm kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích, phương pháp này bao gồm: a) sắp thẳng hàng nhiều (ví dụ, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, hoặc nhiều hơn) trình tự axit amin của các polypeptit Vip, trong đó ít nhất một trong số các polypeptit Vip bộc lộ ít nhất độc tố vừa phải đối với sinh vật và/hoặc tế bào đích; b) xác định ít nhất một gốc axit amin không giống nhau giữa ít nhất hai Vip trình tự axit amin thẳng hàng của (a); c) thế gốc axit amin đối với ít nhất một gốc axit amin được xác định trong bước (b) để tạo ra trình tự axit amin cải biến của polypeptit Vip cải biến; d) xác định mức độ hoạt tính diệt sinh vật gây hại của polypeptit Vip cải biến được tạo ra ở bước (c) kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích; và e) chọn lọc polypeptit Vip cải biến của (d) có hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích giảm so với polypeptit Vip mà không được cải biến với cùng chất thế axit amin, qua đó tạo ra polypeptit Vip có hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng sinh vật và/hoặc tế bào đích giảm.

Theo một vài phương án của sáng chế, polypeptit Vip là polypeptit Vip3. Theo các phương án bổ sung, polypeptit Vip3 bao gồm đột biến axit amin ở vị trí tương ứng với vị trí K455 trong SEQ ID NO:1. Sáng chế cũng bộc lộ polypeptit Vip có hoạt tính diệt côn trùng cải thiện và có trình tự axit amin của SEQ ID NO:3, trình tự axit amin của SEQ ID NO:5, trình tự axit amin của SEQ ID NO:7, trình tự axit amin của SEQ ID NO:9, trình tự axit amin của SEQ ID NO:11, trình tự axit amin của SEQ ID NO:13, trình tự axit amin của SEQ ID NO:18, trình tự axit amin của SEQ ID NO:20, trình tự axit amin của SEQ ID NO:22, trình tự axit amin của SEQ ID NO:24, trình tự axit amin của SEQ ID NO:26, trình tự axit amin của SEQ ID NO:28, trình tự axit amin của SEQ ID NO:30, trình tự axit amin của SEQ ID NO:32, trình tự axit amin của SEQ ID NO:34, trình tự axit amin của SEQ ID NO:36, trình tự axit amin của SEQ ID NO:38, trình tự axit amin của SEQ ID NO:40, trình tự axit amin của SEQ ID NO:42, trình tự axit amin của SEQ ID NO:44, trình tự axit amin của SEQ ID NO:46, trình tự axit amin của SEQ ID NO:48, trình tự axit amin của SEQ ID NO:50, trình tự axit amin của SEQ ID NO:52, trình tự axit amin của SEQ ID NO:54, trình tự axit amin của SEQ ID NO:56, trình tự axit amin của SEQ ID NO:58, trình tự axit amin của SEQ ID NO:60, trình tự axit amin của SEQ ID NO:62, trình tự axit amin của SEQ ID NO:64, trình tự axit amin của SEQ ID NO:66, trình tự axit amin của SEQ ID NO:68, trình tự axit amin của SEQ ID NO:70, trình tự axit amin của SEQ ID NO:72, trình tự axit amin của SEQ

ID NO:74, trình tự axit amin của SEQ ID NO:76, trình tự axit amin của SEQ ID NO:78, trình tự axit amin của SEQ ID NO:80, trình tự axit amin của SEQ ID NO:82, trình tự axit amin của SEQ ID NO:84, trình tự axit amin của SEQ ID NO:86, trình tự axit amin của SEQ ID NO:88, trình tự axit amin của SEQ ID NO:90, trình tự axit amin của SEQ ID NO:92, trình tự axit amin của SEQ ID NO:94, trình tự axit amin của SEQ ID NO:96, trình tự axit amin của SEQ ID NO:98, trình tự axit amin của SEQ ID NO:100, trình tự axit amin của SEQ ID NO:102, trình tự axit amin của SEQ ID NO:104, trình tự axit amin của SEQ ID NO:106, trình tự axit amin của SEQ ID NO:108, trình tự axit amin của SEQ ID NO:110, trình tự axit amin của SEQ ID NO:112, hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực sẽ hiểu rằng, các phương pháp theo sáng chế còn có thể được dùng để giảm hoạt tính diệt sinh vật gây hại của các polypeptit khác hướng đến tế bào hoặc sinh vật đích cụ thể.

Tế bào hoặc sinh vật đích như được sử dụng ở đây có thể là sinh vật hoặc tế bào bất kỳ. Theo một vài phương án, sinh vật và/hoặc tế bào đích là côn trùng hoặc giun tròn, hoặc tế bào của côn trùng hoặc giun tròn.

Như được sử dụng ở đây, côn trùng đích (hoặc tế bào côn trùng) bao gồm, nhưng không giới hạn ở, côn trùng thuộc các bộ cánh cứng, bộ hai cánh, bộ cánh màng, bộ cánh vảy, bộ chấy, bộ cánh giống, bộ cánh nửa, bộ cánh thẳng, bộ cánh viền, bộ hai cánh màng, bộ mối, bộ chấy rận, bộ bọ chét, hoặc bộ cánh lông. Theo một vài phương án, tế bào và/hoặc sinh vật đích là tế bào côn trùng đích hoặc côn trùng thuộc bộ cánh vảy. Theo các phương án khác, côn trùng là *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu), *Plutella xylostella* (sâu tơ), *Spodoptera frugiperda* (sâu xanh mùa thu), *Agrotis ipsilon* (sâu xám), *Agrotis orthogonia* (sâu ngài xanh xám phương tây), *Striacosta albicosta* (sâu ngài hại đậu tương phương tây), *Helicoverpa zea* (sâu đục quả bông), *Heliothis virescens* (sâu đục chồi ở cây thuốc lá), *Spodoptera exigua* (sâu xanh da láng), *Helicoverpa punctigera* (sâu đục chồi tự nhiên), *Helicoverpa armigera* (sâu đục quả bông), *Manduca sexta* (sâu sừng thuốc lá), *Trichoplusia ni* (sâu đo trên cải bắp), *Pectinophora gossypiella* (sâu đục quả màu hồng), *Diatraea grandiosella* (sâu đục thân ngô Tây Nam), *Diatraea saccharalis* (sâu đục thân mía), *Elasmopalpus lignosellus* (sâu nhỏ đục thân ngô), *Psuedoplusia includens* (sâu đo trên cây đậu tương), *Anticarsia gemmatalis* (sâu bướm hại đậu mèo rừng), *Plathypena scabra* (sâu

xanh hại cỏ ba lá), và *Cochylis hospes* (sâu bướm hại hướng dương có viền lưng), hoặc kết hợp bất kỳ của chúng. Theo một vài phương án cụ thể, côn trùng bộ cánh vảy là *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu).

Như được sử dụng ở đây, giun tròn đích (hoặc tế bào giun tròn) bao gồm, nhưng không giới hạn ở, Criconemella, Ditylenchus, Globodera, Helicotylenchus, Heterodera, Longidorus, Meloidogyne, Paratrichodorus, Pratylenchus, Radolpholus, Rotelynchus, Rotylenchulus, Tylenchulus, Xiphinema và/hoặc kết hợp bất kỳ của chúng. Theo các phương án cụ thể, giun tròn đích bao gồm nhưng không chỉ giới hạn ở, *Meloidogyne* spp. (ví dụ, *Meloidogyne incoginita* và *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne arenari*), *Heterodera* spp. (ví dụ, *Heterodera glyxins*, *Heterodera carotae*, *Heterodera schachtii*, *Heterodora avenae* và *Heterodora trifolii*), *Globodera* spp. (ví dụ, *Globodera rostochiensis*), *Radopholus* spp. (ví dụ, *Radopholus similes*), *Rotylenchulus* spp., *Pratylenchus* spp. (ví dụ, *Pratylenchus neglectans* và *Pratylenchus penetrans*), *Aphelenchoides* spp., *Helicotylenchus* spp., *Hoplolaimus* spp., *Paratrichodorus* spp., *Longidorus* spp., *Nacobbus* spp., *Subanguina* spp. *Belonlaimus* spp., *Criconemella* spp., *Criconemoides* spp. *Ditylenchus* spp., *Ditylenchus dipsaci*, *Dolichodorus* spp., *Hemicriconemoides* spp., *Hemicycliophora* spp., *Hirschmaniella* spp., *Hypsoperine* spp., *Macroposthonia* spp., *Melinius* spp., *Punctodera* spp., *Quinisulcius* spp., *Scutellonema* spp., *Xiphinema* spp., *Tylenchorhynchus* spp. và/hoặc kết hợp bất kỳ của chúng.

Theo đó, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực có thể hiểu rằng, ngoài việc làm tăng hoạt tính diệt sinh vật gây hại của các polypeptit Vip 3, các phương pháp được mô tả ở đây có thể được sử dụng để cải thiện các polypeptit diệt sinh vật gây hại thông thường, bao gồm nhưng không giới hạn ở, các polypeptit Vip 1, các polypeptit Vip 2 và/hoặc các protein Cry. Cụ thể là, phương pháp theo sáng chế có thể được sử dụng để xác định các vị trí axit amin đích để phân tích đột biến trong polypeptit bất kỳ khi 1) một hoặc nhiều thành viên trong họ có ít nhất độc tố vừa đủ cho sinh vật gây hại đích; và 2) một hoặc nhiều thành viên của cùng họ không có đến có có hoạt tính kháng rất thấp sinh vật gây hại đích. Ví dụ, các phương pháp này có thể được áp dụng để làm tăng phổ hoạt tính diệt côn trùng hoặc để làm tăng hoạt tính đặc hiệu kháng sinh vật gây hại đích nhất định.

Kết hợp các nguyên lý kiểm soát côn trùng

Polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo sáng chế có thể được sử dụng kết hợp với các protein Cry của *Bacillus thuringiensis* (Bt) hoặc các yếu tố diệt sinh vật gây hại khác để làm tăng dải đích sinh vật gây hại hoặc phòng ngừa hoặc làm giảm sự phát triển của tính kháng lại của sinh vật gây hại. Danh sách đầy đủ của các protein Cry Bt có thể hữu dụng trong kết hợp với polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo sáng chế có thể tìm thấy trên website của Cơ sở dữ liệu danh pháp độc tố của *Bacillus thuringiensis* được lưu trữ bởi Đại học Sussex (cũng xem, Crickmore *et al.*, (1998) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62:807-813). Các yếu tố diệt côn trùng khác bao gồm các chất ức chế proteaza (cả loại serin và xystein), lectin, α-amylaza, peroxidaza và cholesterol oxidaza. Các trình tự mã hóa Vip khác, như *vip*1A(a) và *vip*2A(a) như được bộc lộ trong patent Mỹ số 5,849,870, và các protein Vip3 khác cũng hữu ích theo sáng chế.

Việc đồng biểu hiện của nhiều hơn một yếu tố diệt côn trùng trong cùng một thực vật chuyển gen có thể đạt được bằng cách thiết kế di truyền làm cho một thực vật chứa và biểu hiện tất cả các gen cần thiết dưới dạng khối phân tử. Theo cách khác, thực vật, cha mẹ 1, có thể được thiết kế di truyền để biểu hiện polynucleotit mã hóa polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo sáng chế. Thực vật thứ hai, cha mẹ 2, có thể được dùng kỹ thuật di truyền để biểu hiện yếu tố kiểm soát côn trùng bổ sung. Bằng cách lai cha mẹ 1 với cha mẹ 2 để tạo ra khối di truyền, các thực vật dòng con cháu thu được, biểu hiện tất cả các gen được đưa vào cha mẹ 1 và 2.

Các thực vật chuyển gen hoặc hạt giống chuyển gen theo sáng chế cũng có thể được xử lý với chất diệt sinh vật gây hại hóa học. Xử lý hóa học này có thể bao gồm chất diệt côn trùng, chất diệt nấm hoặc chất diệt giun tròn. thực vật hoặc hạt giống chuyển gen theo sáng chế có thể được xử lý bằng chất diệt côn trùng hoặc chất bao hạt diệt côn trùng như mô tả trong Patent Mỹ số 5,849,320 và 5,876,739. Khi cả chất diệt côn trùng hoặc chất bao hạt diệt côn trùng và thực vật chuyển gen hoặc hạt giống theo sáng chế có hoạt tính kháng cùng côn trùng đích, tổ hợp là hữu ích (i) trong phương pháp tăng cường hoạt tính của polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo sáng chế kháng sinh vật gây hại đích và (ii) trong phương pháp ngăn cản phát triển tính kháng polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo sáng chế bằng cách tạo ra cơ chế thứ hai tác động kháng sinh vật gây hại đích. Do đó, sáng chế đề xuất phương pháp nâng cao hoạt tính kháng hoặc phòng ngừa sự phát triển tính đề kháng trong sinh

vật gây hại đích, ví dụ côn trùng gây hại, bao gồm việc áp dụng chất diệt côn trùng hoặc chất bao hạt diệt côn trùng lên thực vật chuyển gen hoặc hạt giống chứa một hoặc nhiều polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo sáng chế. Các ví dụ về chất diệt côn trùng này bao gồm, nhưng không giới hạn, pyrthroid tổng hợp như tefluthrin, lambda xyhalothrin, bifenthrin, permethrin và xyfluthrin; pyrethroid như pyrethrin, taufluvalinat, flumethrin, trans-xyfluthrin, kadethrin, bioresmethrin, tetramethrin, phenothrin, empenthrin, xyphenothrin, pralethrin, imiprothrin, alethrin và bioalethrin; dẫn xuất oxadiazin, clonicotinyl, như imidacloprid, axetamiprid, và nitenpyram; nitroguanidin; pyrrol, như clofenapyr; pyrazol, như tebufenpyrad; diaxylhydrazin, như tebufenozit, metoxyfenozit, và halofenozit; triazol, như triazamat; sản phẩm sinh học/lên men, như avermectin và spinosad; phenyl pyrazol, như fipronil; organophosphat, như axephat, fenamiphos, diazinon, clopyrifos, clopyrifon-metyl và malathion; và carbamat, như carbaryl, aldicarb, carbofuran, thiodicarb và oxamyl. Thông tin về chất diệt sinh vật gây hại thuộc các dạng liệt kê ở trên có thể tìm thấy trong The Pesticide Manual, xuất bản lần thứ 11, C. D. S. Tomlin, Ed., British Crop Protection Council, Farnham, Surry, UK (1997). Ngay cả khi chất diệt côn trùng hoặc chất bao hạt diệt côn trùng có hoạt tính kháng côn trùng gây hại khác, chất diệt côn trùng hoặc chất bao hạt diệt côn trùng là hữu dụng để mở rộng khoảng kiểm soát côn trùng gây hại.

Sáng chế còn bao hàm phương pháp bảo vệ thực vật chuyển gen theo sáng chế đối với thiệt hại tàn phá bởi một hoặc nhiều sinh vật gây hại, phương pháp này bao gồm việc cung cấp hạt cho thực vật chuyển gen, trong đó hạt này bao gồm phân tử axit nucleic theo sáng chế, và xử lý hạt bằng lượng có hiệu quả chất diệt sinh vật gây hại mà, kết hợp với polypeptit, có hiệu quả bảo vệ thực vật phát triển từ hạt chống lại thiệt hại tàn phá bởi ít nhất một hoặc nhiều sinh vật gây hại.

Theo phương án khác của sáng chế, phương pháp tăng cường bảo vệ thực vật chuyển gen theo sáng chế được đề xuất, phương pháp này bao gồm việc cung cấp hạt cho thực vật chuyển gen, trong đó hạt này bao gồm phân tử axit nucleic theo sáng chế, và xử lý hạt bằng lượng có hiệu quả chất diệt sinh vật gây hại mà, kết hợp với polypeptit theo sáng chế, có hiệu quả bảo vệ thực vật phát triển từ hạt đối với thiệt hại tàn phá bởi ít nhất một hoặc nhiều sinh vật gây hại đến mức lớn hơn kỳ vọng nhờ chất diệt sinh vật gây hại hoặc riêng polypeptit.

Thử nghiệm độc tính

Toàn bộ thử nghiệm trên côn trùng có thể được sử dụng để xác định độc tính. Trong các thử nghiệm này, polypeptit Vip3 được đặt vào phần ăn của côn trùng, ví dụ, phần ăn nhân tạo hoặc mô thực vật, và được tiêu thụ bởi côn trùng đích. Các hệ vô tính gây ra ức chế sinh trưởng hoặc tử vong cho côn trùng đích có thể được thử nghiệm trong các thử nghiệm sinh học khác để xác định tác dụng. Theo một vài phương án, gen *Vip*3 mã hóa các polypeptit có tác dụng cải thiện có thể được xác định là các gen mã hóa các polypeptit có EC_{50} giảm (nồng độ của polypeptit cần để giảm sự phát triển của côn trùng 50%) và/hoặc LC_{50} (nồng độ của polypeptit cần để gây ra tỷ lệ tử vong 50%).

Thử nghiệm *in vitro* cũng có thể được sử dụng để lọc độc tố của các polypeptit Vip3 được cải biến. Các thử nghiệm này thường bao gồm việc sử dụng các tế bào côn trùng được nuôi cấy mà dễ bị tổn thương với các polypeptit Vip3, và/hoặc tế bào biểu hiện thủ thể cho polypeptit Vip3s, hoặc là tự nhiên hoặc là kết quả của biểu hiện gen khác loài. Các thử nghiệm *in vitro* khác có thể được sử dụng, ví dụ, dò biến đổi hình thái học trong tế bào, thuốc nhuộm và nhãn hiệu hữu dụng để dò tỷ lệ chết của tế bào, hoặc dò sự giải phóng ATPase bởi tế bào. Một ví dụ về thử nghiệm *in vitro* thích hợp sử dụng các tế bào côn trùng được nuôi cấy cho độc tố của các polypeptit Vip3 là sử dụng tế bào Sf9 (*Spodoptera frugiperda*). Tế bào Sf9 nhạy cảm cao đối với các polypeptit Vip3. Khi các polypeptit Vip3 được trộn với các tế bào Sf9, màng tế bào trở nên thấm nhiều với các phân tử nhỏ. Khi màu nhuộm như màu xanh trypan được thêm vào huyền phù tế bào, các tế bào này mà bị gây chết bởi polypeptit Vip3 được nhuộm xanh. Do đó, độc tố tế bào của polypeptit Vip3 có thể được xác định bằng phân tích hình ảnh.

Các thử nghiệm *in vitro* bổ sung bao gồm việc sử dụng các thụ thể cho polypeptit Vip3s. Một thụ thể này được bộc lộ trong Patent Mỹ số 6,291,156. Thụ thể polypeptit Vip3 có thể bất động trên bề mặt nhận, ví dụ, nhưng không giới hạn, tấm 96 giếng hoặc màng nitroxenluloza, và được lộ ra dòng vô tính chứa trình tự nucleotit theo sáng chế. Do đó, trình tự nucleotit theo sáng chế mà mã hóa các polypeptit Vip3 chức năng có thể được xác định trên cơ sở ái lực liên kết với thụ thể Vip3. Ngoài ra, gen mã hóa thụ thể Vip3 có thể được biến nạp vào dòng tế bào dễ tổn thương không Vip3, ví dụ Schneider 2 (S2) dòng Drosophilcell, sử dụng các phương pháp là đã biết trong lĩnh

vực (xem ví dụ, Clem and Miller, 1194, Mol. Cell. Biol. 14:5212-522). Các tế bào biến nạp S2 sau đó có thể được phơi nhiễm với dòng vô tính chứa trình tự nucleotit theo sáng chế. Do đó, trình tự nucleotit theo sáng chế mã hóa các polypeptit chức năng có thể được xác định trên cơ sở cam ứng gây chết tế bào.

Sáng chế sẽ được mô tả cụ thể bằng cách viện dẫn đến các ví dụ sau đây. Cần hiểu rằng các ví dụ này không nhằm giới hạn phạm vi của các yêu cầu bảo hộ theo sáng chế, mà chỉ nhằm minh họa cho một số phương án nhất định. Biến thể bất kỳ về phương pháp được ví dụ có thể thực hiện bởi người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực đều thuộc phạm vi của sáng chế.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Ví dụ 1. Các tiêu chí lựa chọn gốc để làm tăng hoạt tính đặc hiệu của Vip3 kháng sâu đục thân ngô châu Âu (ECB; *Ostrinia nubilalis*)

Vip3A (SEQ ID NO:15) có hoạt tính kháng phổ rộng côn trùng bộ cánh vảy bao gồm sâu xám (BCW), sâu đục quả bông (CEW), sâu đục chồi ở cây thuốc lá (TBW) và sâu xanh mùa thu (FAW), nhưng không có hoạt tính kháng sâu đục thân ngô châu Âu (ECB).

Vip3B (SEQ ID NO:16) và Vip3D (SEQ ID NO:1) còn có hoạt tính kháng FAW và còn có hoạt tính kháng ECB. Tuy nhiên, Vip3B và Vip3D có hoạt tính đặc hiệu kháng ECB thấp hơn, ví dụ, Cry1Ab, mà có thể làm các protein này kém hấp dẫn đối với chiến lược "liều dùng cao" kháng ECB khi được triển khai để kiểm soát côn trùng thông qua biểu hiện trong các thực vật chuyển gen. Do đó, Vip3D được thiết kế để làm tăng hoạt tính đặc hiệu kháng ít nhất ECB.

Các axit amin trong Vip3D được chọn để gây đột biến dựa trên việc sắp thẳng hàng trình tự axit amin của Vip3A, Vip3B và Vip3D (xem bảng 2), hoạt tính sinh học các polypeptit riêng lẻ và giả định sau đây: 1) Hoạt tính ECB của Vip3D được kiểm soát bởi một số axit amin được giữ trong Vip3B và Vip3D nhưng khác nhau trong Vip3A (có nghĩa là Vip3D=Vip3B≠Vip3A). Các axit amin này được gọi là "chính" và được bôi đậm trong sắp hàng trình tự được bộc lộ trong bảng 2; 2) cải biến về hoạt tính ECB của Vip3B và Vip3D được điều hòa bằng các axit amin ghép đôi không xứng giữa Vip3B và Vip3D. ở các vị trí này các axit amin trong ba polypeptit là khác nhau (có nghĩa là Vip3D≠Vip3B≠Vip3A). Các axit amin này được gọi là "hiệp đồng" và

được đánh dấu trong sắp hàng trình tự của bảng 2 bằng "*" trên vị trí axit amin; và 3) Vip3A có một số axit amin giống với các axit amin trong Vip3B hoặc Vip3D có thể liên quan đến hoạt tính của Vip3B's hoặc Vip3D kháng ECB (có nghĩa là Vip3B = Vip3A ≠ Vip3D và Vip3D = Vip3A ≠Vip3B). Các gốc này được gọi là "hiệp đồng ẩn" và được gạch chân trong sắp hàng trình tự được bộc lộ trong bảng 2. Ngoài ra, dựa trên những gì đã biết trong lĩnh vực về vùng độc tố lõi của Vip3A, vùng độc tố lõi của Vip3D được cho là bao gồm các axit amin G200 (được đánh dấu bằng mũi tên trong bảng 2) đến axit amin K787của SEQ ID NO: 1.

Bảng 2. Sắp thẳng hàng các trình tự axit amin Vip3

Số tham chiếu	Trình tự	Đầu	Cuối	Chiều dài	Tương hợp	%Đồng nhất
Ref 1	Vip3B_SEQIDNO:16	1	787	787 aa		
2	Vip3A_SEQIDNO:15	1	789	789 aa	649	82
3	Vip3D_SEQIDNO:1	1	788	788 aa	672	85

```
Vip3B       1 MNKNNTKLNARALPSFIDYFNGIYGFATGIKDIMNMIFKTDTGGNLTLDE
Vip3A       1 MNKNNTKLSTRALPSFIDYFNGIYGFATGIKDIMNMIFKTDTGGDLTLDE
Vip3D       1 MNMNNTKLNARALPSFIDYFNGIYGFATGIKDIMNMIFKTDTGGNLTLDE

Vip3B      51 ILKNQQLLNEISGKLDGVNGSLNDLIAQGNLNTELSKEILKIANEQNQVL
Vip3A      51 ILKNQQLLNDISGKLDGVNGSLNDLIAQGNLNTELSKEILKIANEQNQVL
Vip3D      51 ILKNQQLLNEISGKLDGVNGSLNDLIAQGNLNTELSKEILKIANEQNQVL

Vip3B     101 NDVNNKLNAINTMLHIYLPKITSMLNDVMKQNYALSLQIEYLSKQLQEIS
Vip3A     101 NDVNNKLDAINTMLRVYLPKITSMLSDVMKQNYALSLQIEYLSKQLQEIS
Vip3D     101 NDVNNKLDAINTMLHIYLPKITSMLSDVMKQNYALSLQIEYLSKQLQEIS
                                                              ↓
Vip3B     151 DKLDVINVNVLINSTLTEITPAYQRMKYVNEKFEDLTFATETTLKVKKNS
Vip3A     151 DKLDIINVNVLINSTLTEITPAYQRIKYVNEKFEELTFATETSSKVKKDG
Vip3D     151 DKLDIINVNVLINSTLTEITPAYQRIKYVNEKFEELTFATETTLKVKKDS

Vip3B     201 SPADILDELTELTELAKSVTKNDVDGFEFYLNTFHDVMVGNNLFGRSALK
Vip3A     201 SPADILDELTELTELAKSVTKNDVDGFEFYLNTFHDVMVGNNLFGRSALK
```

Vip3D 201 SPADILDELTELTELAKSVTKNDVDGFEFYLNTFHDVMVGNNLFGRSALK

Vip3B 251 TASELIAKENVKTSGSEVGNVYNFLIVLTALQAKAFLTLTTCRKLLGLAD
Vip3A 251 TASELITKENVKTSGSEVGNVYNFLIVLTALQAKAFLTLTTCRKLLGLAD
Vip3D 251 TASELIAKENVKTSGSEVGNVYNFLIVLTALQAKAFLTLTTCRKLLGLAD

Vip3B 301 IDYTFIMNEHLDKEKEEFRVNILPTLSNTFSNPNYAKAKGSNEDAKIIVE
Vip3A 301 IDYTSIMNEHLNKEKEEFRVNILPTLSNTFSNPNYAKVKGSDEDAKMIVE
Vip3D 301 IDYTSIMNEHLNKEKEEFRVNILPTLSNTFSNPNYAKVKGSDEDAKMIVE

Vip3B 351 AKPGYALVGFEMSNDSITVLKAYQAKLKQDYQVDKDSLSEIVYGDMDKLL
Vip3A 351 AKPGHALIGFEISNDSITVLKVYEAKLKQNYQVDKDSLSEVIYGDMDKLL
Vip3D 351 AKPGHALVGFEMSNDSITVLKVYEAKLKQNYQVDKDSLSEVIYGDTDKLF

Vip3B 401 CPDQSEQIYYTNNIAFPNEYVITKITFTKKMNSLRYEATANFYDSSTGDI
Vip3A 401 CPDQSEQIYYTNNIVFPNEYVITKIDFTKKMKTLRYEVTANFYDSSTGEI
Vip3D 401 CPDQSEQIYYTNNIVFPNEYVITKIDFTKKMKTLRYEVTANFYDSSTGEI

Vip3B 451 DLNKTKVESSEAEYSTLSASTDGVYMPLGIISETFLTPINGFGIVVDENS
Vip3A 451 DLNKKKVESSEAEYRTLSANDDGVYMPLGVISETFLTPINGFGLQADENS
Vip3D 451 DLNKKKVESSEAEYRTLSANDDGVYMPLGVISETFLTPINGFGLQADENS

Vip3B 501 KLVNLTCKSYLREVLLATDLSNKETKLIVPPIGFISNIVENGNLEGENLE
Vip3A 501 RLITLTCKSYLRELLLATDLSNKETKLIVPPSGFISNIVENGSIEEDNLE
Vip3D 501 RLITLTCKSYLRELLLATDLSNKETKLIVPPSGFISNIVENGSIEEDNLE

Vip3B 551 PWKANNKNAYVDHTGGVNGTKALYVHKDGEFSQFIGDKLKSKTEYVIQYI
Vip3A 551 PWKANNKNAYVDHTGGVNGTKALYVHKDGGISQFIGDKLKPKTEYVIQYT
Vip3D 551 PWKANNKNAYVDHTGGVNGTKALYVHKDGGFSQFIGDKLKPKTEYVIQYT

Vip3B 601 VKGKASILLKDEKNGDCIYEDTNNGLEDFQTITKSFITGTDSSGVHLIFN
Vip3A 601 VKGKPSIHLKDENTGYIHYEDTNNNLEDYQTINKRFTTGTDLKGVYLILK

```
Vip3D     601 VKGKPSIHLKDENTGYIHYEDTNNNLKDYQTITKRFTTGTDLKGVYLILK

                              *           * *  * *  *    *

Vip3B     651 SQNGDEAFGENFTISEIRLSEDLLSPELINSDAWVGSQGTWISGNSLTIN
Vip3A     651 SQNGDEAWGDNFIILEISPSEKLLSPELINTNNWTSTGSTNISGNTLTLY
Vip3D     651 SQNGDEAWGDKFTILEIKPAEDLLSPELINPNSWITTPGASISGNKLFIN

              * *          *      **     *               * *** *

Vip3B     701 SNVNGTFRQNLSLESYSTYSMNFNVNGFAKVTVRNSREVLFEKNYPQLSP
Vip3A     701 QGGRGILKQNLQLDSFSTYRVYFSVSGDANVRIRNSREVLFEKRYMSG-A
Vip3D     701 LGTNGTFRQSLSLNSYSTYSISFTASGPFNVTVRNSREVLFERSNLMSST

                    *   **            ***

Vip3B     751 KDISEKFTTAANNTGLYVELSR---FTSGGAINFRNFSIK
Vip3A     750 KDVSEMFTTKFEKDNFYIELSQGNNLYGGPIVHFYDVSIK
Vip3D     751 SHISGTFKTESNNTGLYVELSR--RSGGGGHISFENVSIK
```

Sử dụng các tiêu chí này, 33 "chính", 28 "hiệp đồng" và 74 "hiệp đồng ẩn" được xác định là ứng viên tốt nhất để phân tích đột biến. Các axit amin được chọn được thể hiện trong bảng 3.

Bảng 3. Các gốc để cải biến (cùng dữ liệu như thể hiện trong bảng 1)

Thiết yếu (33)		Hiệp đồng (28)		Hiệp đồng ẩn (80)			
S200	N763	K668	G775	N312	A496	L642	H752
A257	T764	P681	H779	V338	R501	K643	G755
K284	G765	S683	S781	D342	I503	L649	K758
V358	L766	T686	E783	M347	T504	K650	G776
M362	V768	P688		H355	L514	W658	V785

F581	R772	S691	V372	S532	D660
T633	G778	K696	E374	S543	K661
T663	I780	L701	N380	I544	L665
D672	N784	T703	V391	E546	P669
G689		N714	I392	D547	A670
I699		I721	F400	G580	N682
N700		S722	V415	P591	I685
N704		T724	D426	T600	T687
T706		P728	K432	P605	A690
F707		S744	T433	H608	F698
R708		L746	V438	N613	G702
S712		M747	E449	T614	S710
Y716		S748	K455	Y616	A725
S720		T750	R465	I617	S726
T732		T756	N470	H618	F729
V733		E760	D471	N625	N730
S749		S761	V480	Y629	R743
I753		R773	L494	R635	N745
N762		S774	Q495	T637	S751

Ví dụ 2. Thế gốc

Các trình tự mã hóa vip3D đột biến, có nguồn gốc từ trình tự mã hóa vip3D bố mẹ kiểu dại của SEQ ID NO: 1, được xây dựng sử dụng QuikChange® Site-Directed Mutagenesis Kit (Stratagene, La Jolla, CA). Gây đột biến các đoạn mồi được thiết kế để tạo ra các đột biến điểm đặc hiệu sử dụng các kỹ năng đã biết trong lĩnh vực và thường không theo các thông số đề xuất của nhà sản xuất cho thiết kế này. Mẫu cho phản ứng gây đột biến là trình tự mã hóa *vip3D* kiểu dại (SEQ ID NO: 1) trong vectơ tạo ra đoạn 6X Histidin (6-His) cũng như trình tự epitop ngắn GMASMATGGQQMGRDLYDDDDKDPTL (SEQ ID NO: 453) để phát hiện bằng

các kháng thể ở các đầu N của polypeptit đột biến được biểu hiện. Tóm lại, phương pháp gây đột biến bao gồm việc làm biến tính vectơ chứa trình tự mã hóa *vip3D* và tôi lạp thể đã biến tính bằng các đoạn mồi đột biến chưa đột biến mong muốn. Sử dụng hoạt động chuyển chỗ không sợi của PfuTurbo® ADN polymeraza (Stratagene, La Jolla, CA), các đoạn mồi đột biến được mở rộng và kết hợ tạo thành các sợi vòng khía. Mẫu ADN bố mẹ không đột biến, được metyl hóa được liệt kê với enzym hạn chế Dpn I và dsADN vòng, khía được biến nạp vào XL1-Blue hoặc các tế bào siêu năng so sánh được.

Ban đầu, việc thế alanin được thực hiện ở các vị trí xác định là vị trí ẩn, chính và hiệp đồng. Các đoạn mồi thường là khoảng từ 27 đến khoảng 46 nucleotit chiều dài và các đoạn mồi xuôi thường được thiết kế với công thức chung sau: X_1gcgX_2, khi cgc là codon mã hóa alanin và khi X_1 là đoạn giãn liền kề của nucleotit 5' của codon *vip3D* tự nhiên được làm đột biến và X_2 là đoạn giãn liền kề của nucleotit 3' của codon *vip3D* tự nhiên được làm đột biến. X_1 thường bao gồm từ 13 đến 26 nucleotit và X_2 thường bao gồm từ 11 đến 19 nucleotit. Các đoạn mồi ngược là bổ sung ngược của các đoạn mồi xuôi. Ví dụ, để thực hiện thế alanin ở vị trí K668 ở SEQ ID NO: 15, các đoạn mồi xuôi 5'-TACAATTTTAGAAATTgcgCCTGCGGAGGATTT-3' (SEQ ID NO: 131) và đoạn mồi ngược 5'-AAATCCTCCGCAGGcgcAATTTCTAAAATTGTA-3' (SEQ ID NO: 132) được sử dụng. Các ví dụ về các đoạn mồi được thiết kế khác theo cách này đối với một số vị trí được làm đột biến nhưng không phải tất cả được thể hiện trong bảng 4. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rằng bảng 4 có nghĩa là đề xuất các ví dụ không giới hạn của một số đoạn mồi hữu dụng cho sáng chế và các trình tự mồi khác có thể được sử dụng.

Bảng 4. Các ví dụ về các đoạn mồi X_1cgcX_2 để tạo ra sự thay thế alanin

Tên	Đoạn mồi xuôi (5'→3')	SEQ ID NO:	Đoạn mồi ngược (5'→3')	SEQ ID NO:
K668A	TACAATTTTAGAAATTgcgCCTGCGGAGGATTT	131	AAATCCTCCGCAGGcgcAATTTCTAAAATTGTA	132
P681A	CCAGAATTAATTAATgcgAATTCTTGGATTACG	133	CGTAATCCAAGAATTcgcATTAATTAATTCTGG	134
S683A	TAATTAATCCGAATgcgTGGATTACGAC	135	GTCGTAATCCAcgcATTCGGATTAATTA	136
T686A	GAATTCTTGGATTgcgACTCCAGGGGC	137	GCCCCTGGAGTcgcAATCCAAGAATTC	138
P688A	CTTGGATTACGACTgcgGGGGCTAGCATTTC	139	GAAATGCTAGCCCCcgcAGTCGTAATCCAAG	140

S691A	GACTCCAGGGGCTgcgATTTCAGGAAATAAAC	141	GTTTATTTCCTGAAATcgcAGCCCCTGGAGTC	142
K696A	GCATTTCAGGAAATgcgCTTTTCATTAAC	143	GTTAATGAAAAGcgcATTTCCTGAAATGC	144
L701A	GGAAATAAACTTTTCATTAACgcgGGGACAAATGGGACC	145	GGTCCCATTTGTCCCcgcGTTAATGAAAAGTTTATTTCC	146
T703A	CTTTTCATTAACTTGGGGgcgAATGGGACCTTTAG	147	CTAAAGGTCCCATTcgcCCCCAAGTTAATGAAAAG	148
N714A	GGACCTTTAGACAAAGTCTTTCATTAgcgAGTTATTCAACTTATAG	149	CTATAAGTTGAATAACTcgcTAATGAAAGACTTTGTCTAAAGGTCC	150
I721A	CAACTTATAGTgcgAGCTTTACTGCATC	151	GATGCAGTAAAGCTcgcACTATAAGTTG	152
S722A	GTTATTCAACTTATAGTATAgcgTTTACTGCATCAGGACC	153	GGTCCTGATGCAGTAAAcgcTATACTATAAGTTGAATAAC	154
T724A	CTTATAGTATAAGCTTTgcgGCATCAGGACCATTTAATGTG	155	CACATTAAATGGTCCTGATGCcgcAAAGCTTATACTATAAG	156
P728A	GCTTTACTGCATCAGGAgcgTTTAATGTGACGGTAAG	157	CTTACCGTCACATTAAAcgcTCCTGATGCAGTAAAGC	158
S744A	GTATTATTTGAACGAgcgAACCTTATGTCTTC	159	GAAGACATAAGGTTcgcTCGTTCAAATAATAC	160
L746A	GAACGAAGCAACgcgATGTCTTCAACTAGTC	161	GACTAGTTGAAGACATcgcGTTGCTTCGTTC	162
M747A	GAACGAAGCAACCTTgcgTCTTCAACTAGTCATATTTC	163	GAAATATGACTAGTTGAAGAcgcAAGGTTGCTTCGTTC	164
S748A	GAACGAAGCAACCTTATGgcgTCAACTAGTCATATTTC	165	GAAATATGACTAGTTGAcgcCATAAGGTTGCTTCGTTC	166
T750A	CCTTATGTCTTCAgcgAGTCATATTTCTG	167	CAGAAATATGACTcgcTGAAGACATAAGG	168
T756A	CTAGTCATATTTCTGGGgcgTTCAAAACTGAATCC	169	GGATTCAGTTTTGAAcgcCCCAGAAATATGACTAG	170
E760A	GGACATTCAAAACTgcgTCCAATAATACCGG	171	CCGGTATTATTGGAcgcAGTTTTGAATGTCC	172
S761A	CATTCAAAACTGAAgcgAATAATACCGGATTATATG	173	CATATAATCCGGTATTATTcgcTTCAGTTTTGAATG	174
R773A	GTAGAACTTTCCCGTgcgTCTGGTGGTGGTGG	175	CCACCACCACCAGAcgcACGGGAAAGTTCTAC	176
S774A	CTTTCCCGTCGCgcgGGTGGTGGTGGTC	177	GACCACCACCACCcgcGCGACGGGAAAG	178
G775A	GAACTTTCCCGTCGCTCTgcgGGTGGTGGTCATATATC	179	GATATATGACCACCACCcgcAGAGCGACGGGAAAGTTC	180
H779A	GGTGGTGGTGGTgcgATATCATTTGAAAAC	181	GTTTTCAAATGATATcgcACCACCACCACC	182
S781A	GGTGGTGGTCATATAgcgTTTGAAAACGTTTC	183	GAAACGTTTTCAAAcgcTATATGACCACCACC	184
E783A	GGTCATATATCATTTgcgAACGTTTCTATTAAA	185	TTTAATAGAAACGTTcgcAAATGATATATGACC	186
A257A	CTGCTTCAGAATTAATTgcgAAAGAAAATGTG	187	CACATTTTCTTTcgcAATTAATTCTGAAGCAG	188

M362A	CATTGGTTGGGTTTGAAgcgAGCAATGATTCAATCAC	189	GTGATTGAATCATTGCTcgcTTCAAACCCAACCAATG	190
T633A	GATTATCAAACTATTgcgAAACGTTTTACTACAGG	191	CCTGTAGTAAAACGTTTcgcAATAGTTTGATAATC	192
T663A	CTTGGGGAGATAAATTTgcgATTTTAGAAATTAAGCC	193	GGCTTAATTTCTAAAATcgcAAATTTATCTCCCCAAG	194
N700A	GGAAATAAACTTTTCATTgcgTTGGGGACAAATGGGAC	195	GTCCCATTTGTCCCCAAcgcAATGAAAAGTTTATTTCC	196
T706A	CTTGGGGACAAATGGGgcgTTTAGACAAAGTCTTTC	197	GAAAGACTTTGTCTAAAcgcCCCATTTGTCCCCAAG	198
S712A	CCTTTAGACAAAGTCTTgcgTTAAACAGTTATTCAAC	199	GTTGAATAACTGTTTAAcgcAAGACTTTGTCTAAAGG	200
Y716A	GTCTTTCATTAAACAGTgcgTCAACTTATAGTATAAGC	201	GCTTATACTATAAGTTGAcgcACTGTTTAATGAAAGAC	202
S720A	CAGTTATTCAACTTATgcgATAAGCTTTACTGCATC	203	GATGCAGTAAAGCTTATcgcATAAGTTGAATAACTG	204
T732A	GGACCATTTAATGTGgcgGTAAGAAATTCTAGG	205	CCTAGAATTTCTTACcgcCACATTAAATGGTCC	206
S749A	GAAGCAACCTTATGTCTgcgACTAGTCATATTTCTGG	207	CCAGAAATATGACTAGTcgcAGACATAAGGTTGCTTC	208
T764A	CAAAACTGAATCCAATAATgcgGGATTATATGTAGAAC	209	GTTCTACATATAATCCcgcATTATTGGATTCAGTTTTG	210
G765A	CTGAATCCAATAATACCgcgTTATATGTAGAACTTTC	211	GAAAGTTCTACATATAAcgcGGTATTATTGGATTCAG	212
S200A	CTTTAAAAGTAAAAAAGGATgcgTCGCCTGCTGATATTCTTG	213	CAAGAATATCAGCAGGCGAcgcATCCTTTTTTACTTTTAAAG	214
K284A	CAGCTCTACAAGCAgcgGCTTTTCTTACTTTAAC	215	GTTAAAGTAAGAAAAGCcgcTGCTTGTAGAGCTG	216
V358A	CCAGGACATGCATTGgcgGGGTTTGAAATGAGC	217	GCTCATTTCAAACCCcgcCAATGCATGTCCTGG	218
F581A	CATAAGGACGGAGGAgcgTCACAATTTATTGGAG	219	CTCCAATAAATTGTGAcgcTCCTCCGTCCTTATG	220
D672A	GAAATTAAGCCTGCGGAGgcgTTATTAAGCCCAG	221	CTGGGCTTAATAAcgcCTCCGCAGGCTTAATTTC	222
G689A	GGATTACGACTCCAgcgGCTAGCATTTCAGG	223	CCTGAAATGCTAGCcgcTGGAGTCGTAATCC	224
I699A	CAGGAAATAAACTTgcgATTAACTTGGGGACAAATGGG	225	CCCATTTGTCCCCAAGTTAATcgcAAGTTTATTTCCTG	226
N704A	CATTAACTTGGGGACAgcgGGGACCTTTAGACA	227	CTTTGTCTAAAGGTCCCcgcTGTCCCCAAGTTAATG	228

	AAG			
F707A	GGGACAAATGGGACCgcgAGACAAAGTCTTTC	229	GAAAGACTTTGTCTcgcGGTCCCATTTGTCCC	230
R708A	GACAAATGGGACCTTTgcgCAAAGTCTTTCATTAAAC	231	GTTTAATGAAAGACTTTGcgcAAAGGTCCCATTTGTC	232
V733A	GGACCATTTAATGTGACGgcgAGAAATTCTAGGGAAG	233	CTTCCCTAGAATTTCTcgcCGTCACATTAAATGGTCC	234
I753A	GTCTTCAACTAGTCATgcgTCTGGGACATTCAAAACTG	235	CAGTTTTGAATGTCCCAGAcgcATGACTAGTTGAAGAC	236
N762A	GACATTCAAAACTGAATCCgcgAATACCGGATTATATGTAG	237	CTACATATAATCCGGTATTcgcGGATTCAGTTTTGAATGTC	238
N763A	CATTCAAAACTGAATCCAATgcgACCGGATTATATGTAGAAC	239	GTTCTACATATAATCCGGTcgcATTGGATTCAGTTTTGAATG	240
L766A	GAATCCAATAATACCGGAgcgTATGTAGAACTTTCCCG	241	CGGGAAAGTTCTACATAcgcTCCGGTATTATTGGATTC	242
V768A	CAATAATACCGGATTATATgcgGAACTTTCCCGTCGCTCTG	243	CAGAGCGACGGGAAAGTTCcgcATATAATCCGGTATTATTG	244
R772A	GTAGAACTTTCCgcgCGCTCTGGTGGTGGTG	245	CACCACCACCAGAGCGcgcGGAAAGTTCTAC	246
G778A	CGCTCTGGTGGTGGTgcgCATATATCATTTG	247	CAAATGATATATGcgcACCACCACCAGAGCG	248
I780A	GGTGGTGGTGGTCATgcgTCATTTGAAAACGTTTC	249	GAAACGTTTTCAAATGAcgcATGACCACCACCACC	250
N784A	GTCATATATCATTTGAAgcgGTTTCTATTAAATAAAAGGG	251	CCCTTTTATTTAATAGAAACcgcTTCAAATGATATATGAC	252

Theo đó, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này hiểu rằng, các đoạn mồi có thể được điều chế để thế các codon axit amin khác trong các polypeptit Vip3 hoặc codon axit amin bất kỳ trong polypeptit quan tâm bất kỳ sử dụng công thức X_1nnnX_2 (n= nucleotit bất kỳ; X_1= đoạn giãn liền kề có khoảng từ 13 đến 26 nucleotit 5' của codon được làm đột biến; X_2 =đoạn giãn liền kề có khoảng từ 11 đến 19 nucleotit 3' của codon được làm đột biến), như được mô tả ở đây.

Các đoạn mồi khác được thiết kế để biến đổi bazơ ở vị trí thứ nhất hoặc thứ hai hoặc cả vị trí thứ nhất và thứ hai của codon vip3D tự nhiên được làm đột biến. Ví dụ, để thực hiện thế alanin ở vị trí V785 của SEQ ID NO: 1, đoạn mồi xuôi 5'-CATATATCATTTGAAAACGcTTCTATTAAATAAAAG-3' (SEQ ID NO: 253) và đoạn mồi ngược 5'- CTTTTATTTAATAGAAgCGTTTTCAAATGATATATG-3' (SEQ ID NO: 254) có thể được sử dụng, khi các trường hợp nhỏ "c" trong các đoạn

mồi xuôi và các trường hợp nhỏ "g" trong đoạn mồi ngược chỉ định cặp bazơ đột biến trong codon mã hóa V785. Các ví dụ về các đoạn mồi khác được thiết kế theo cách này cho một số vị trí được làm đột biến nhưng không phải tất cả được thể hiện trong Bảng 5. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rằng các trình tự mồi khác nhau cho các polypeptit Vip (hoặc các polypeptit mong muốn bất kỳ khác) có thể được thiết kế và và sử dụng theo cách này (công thức $X_1n_{1-2}X_2$; n=nucleotit thứ nhất và/hoặc thứ hai của codon được làm đột biến; X_1= đoạn giãn liền kề có khoảng từ 13 đến 26 nucleotit 5' của (các) nucleotit được làm đột biến; X_2 =đoạn giãn liền kề có khoảng từ 11 đến 19 nucleotit 3' của (các) nucleotit được làm đột biến)) và bảng 5 nghĩa là đề xuất các ví dụ không giới hạn của một số đoạn mồi hữu dụng theo sáng chế.

Bảng 5. Các ví dụ về các đoạn mồi để biến đổi vị trí thứ nhất và/hoặc thứ hai của codon *vip3* đột biến

Tên	Đoạn mồi xuôi (5'→3')	SEQ ID NO:	Đoạn mồi ngược (5'→3')	SEQ ID NO:
V785A	CATATATCATTTGAAAACGcTTCTATTAAATAAAAG	253	CTTTTATTTAATAGAAgCGTTTTCAAATGATATATG	254
G776A	TCCCGTCGCTCTGGTGcTGGTGGTCATATATCA	255	TGATATATGACCACCAgCACCAGAGCGACGGGA	256
K758A	ATTTCTGGGACATTCgcAACTGAATCCAATAAT	257	ATTATTGGATTCAGTTgcGAATGTCCCAGAAAT	258
S751A	CTTATGTCTTCAACTgcTCATATTTCTGGGAC	259	GTCCCAGAAATATGAgcAGTTGAAGACATAAG	260
N745A	TTATTTGAACGAAGCgcCCTTATGTCTTCAAC	261	GTTGAAGACATAAGGgcGCTTCGTTCAAATAA	262
R743A	GAAGTATTATTTGAAgcAAGCAACCTTATGTC	263	GACATAAGGTTGCTTgcTTCAAATAATACTTC	264
F729A	CTGCATCAGGACCAgcTAATGTGACGGTAAG	265	CTTACCGTCACATTAgcTGGTCCTGATGCAG	266
S726A	GTATAAGCTTTACTGCAgCAGGACCATTTAATG	267	CATTAAATGGTCCTGcTGCAGTAAAGCTTATAC	268
G702A	CTTTTCATTAACTTGGcGACAAATGGGACCTTT	269	AAAGGTCCCATTTGTCgCCAAGTTAATGAAAAG	270
F698A	CAGGAAATAAACTTgcCATTAACTTGGGGAC	271	GTCCCCAAGTTAATGgcAAGTTTATTTCCTG	272
L665A	GATAAATTTACAATTgcAGAAATTAAGCCTGC	273	GCAGGCTTAATTTCTgcAATTGTAAATTTATC	274
K661A	GAAGCTTGGGGAGATgcATTTACAATTTTAG	275	CTAAAATTGTAAATgcATCTCCCCAAGCTTC	276
D660A	GAAGCTTGGGGAGcTAAATTTACAATTT	277	AAATTGTAAATTTAgCTCCCCAAGCTTC	278
W658A	CAAAATGGAGATGAAGCTgcGGGAGATAAATTTACAA	279	TTGTAAATTTATCTCCCgcAGCTTCATCTCCATTTTG	280
L649A	GGGAGTGTATTTAATTgcAAAAAGTCAAAATGG	281	CCATTTTGACTTTTTgcAATTAAATACACTCCC	282

K643A	CTACAGGAACTGATTTAgcGGGAGTGTATTTAATTT	283	AAATTAAATACACTCCCgcTAAATCAGTTCCTGTAG	284
L642A	TTACTACAGGAACTGATgcAAAGGGAGTGTATTT	285	AAATACACTCCCTTTgcATCAGTTCCTGTAGTAA	286
T637A	CTATTACTAAACGTTTTgCTACAGGAACTGATTTA	287	TAAATCAGTTCCTGTAGcAAAACGTTTAGTAATAG	288
Y629A	TAATAATTTAAAAGATgcTCAAACTATTACTAAACG	289	CGTTTAGTAATAGTTTGAgcATCTTTTAAATTATTA	290
N625A	GAAGATACAAATAATgcTTTAAAAGATTATCA	291	TGATAATCTTTTAAAgcATTATTTGTATCTTC	292
H618A	ATACTGGATATATTgcTTATGAAGATACAA	293	TTGTATCTTCATAAgcAATATATCCAGTAT	294
I617A	GAAAATACTGGATATgcTCATTATGAAGATAC	295	GTATCTTCATAATGAgcATATCCAGTATTTTC	296
T614A	CATTTAAAAGATGAAAATgCTGGATATATTCATTATG	297	CATAATGAATATATCCAGcATTTTCATCTTTTAAATG	298
H608A	GGAAAACCTTCTATTgcTTTAAAAGATGAAAATAC	299	GTATTTTCATCTTTTAAAgcAATAGAAGGTTTTCC	300
T600A	GTATGTAATCCAATATgCTGTTAAAGGAAAACC	301	GGTTTTCCTTTAACAGcATATTGGATTACATAC	302
P591A	GGAGATAAGTTAAAAgCGAAAACTGAGTATG	303	CATACTCAGTTTTCGcTTTTAACTTATCTCC	304
D547A	CGGGTCCATAGAAGAGGcCAATTTAGAGCCGTGG	305	CCACGGCTCTAAATTGgCCTCTTCTATGGACCCG	306
I544A	TGTAGAGAACGGGTCCgcAGAAGAGGACAATTTAG	307	CTAAATTGTCCTCTTCTgcGGACCCGTTCTCTACA	308
S543A	TATTGTAGAGAACGGGgCCATAGAAGAGGACAA	309	TTGTCCTCTTCTATGGcCCCGTTCTCTACAATA	310
S532A	CTAAATTGATCGTCCCACCAgcTGGTTTTATTAGCAATATTG	311	CAATATTGCTAATAAAACCAgcTGGTGGGACGATCAATTTAG	312
L514A	CATATTTAAGAGAAgcACTGCTAGCAACAG	313	CTGTTGCTAGCAGTgcTTCTCTTAAATATG	314
T504A	GAAAATTCAAGATTAATTgCTTTAACATGTAAATCAT	315	ATGATTTACATGTTAAAGcAATTAATCTTGAATTTTC	316
I503A	GAAAATTCAAGATTAgcTACTTTAACATGTAAATC	317	GATTTACATGTTAAAGTAgcTAATCTTGAATTTTC	318
R501A	GCTGATGAAAATTCAgcATTAATTACTTTAAC	319	GTTAAAGTAATTAATgcTGAATTTTCATCAGC	320
Q495A	GATAAATGGGTTTGGCCTCgcAGCTGATGAAAATTCAAG	321	CTTGAATTTTCATCAGCTgcGAGGCCAAACCCATTTATC	322
L494A	GATAAATGGGTTTGGCgcCCAAGCTGATGAAAATTC	323	GAATTTTCATCAGCTTGGgcGCCAAACCCATTTATC	324
V480A	GTATATGCCATTAGGTGcCATCAGTGAAACATTT	325	AAATGTTTCACTGATGgCACCTAATGGCATATAC	326
F400A	GATACGGATAAATTAgcTTGTCCAGATCAATC	327	GATTGATCTGGACAAgcTAATTTATCCGTATC	328
T396A	GGTTATTTATGGTGATgCGGATAAATTATTTTG	329	CAAAATAATTTATCCGcATCACCATAAATAACC	330
I392A	CCTTATCGGAGGTTgcTTATGGTGATACGG	331	CCGTATCACCATAAgcAACCTCCGATAAGG	332
V391A	GGATTCCTTATCGGAGGcTATTTATGGTGATACGG	333	CCGTATCACCATAAATAgCCTCCGATAAGGAATCC	334
H355A	GTGGAAGCTAAACCAGGAgcTGCATTGGTTGGGT	335	CAAACCCAACCAATGCAgcTCCTGGTTTAGCTTCCAC	336

	TTG			
M347A	GTGATGAAGATGCAAAGgcGATTGTGGAAGCTAA ACC	337	GGTTTAGCTTCCACAATCgcCTTTGCATCTTCATCAC	338

Các đột biến alanin kép có thể còn được thực hiện và thử nghiệm theo các phương pháp được bộc lộ ở đây. Một số phương án của đột biến kép được thực hiện bao gồm I544A + S712A, K455A + V338A, H618A + T750A, L701A + I721A, S722A + S781A, S761A + S744A, S781A + S744A và S781A + T750A. Đột biến kép được thực hiện bằng cách gây đột biến ở vị trí thứ nhất với các đoạn mồi được thiết kế như được mô tả ở trên trong phản ứng PCR, được xác nhận là chính xác, và sau đó trong phản ứng PCR tiếp theo, sử dụng ADN từ đột biến thứ nhất làm mẫu, đột biến vị trí thứ hai sử dụng các đoạn mồi được thiết kế như được mô tả ở trên.

Ví dụ 3: Thử nghiệm sinh học của các protein đột biến alanin Vip3D

Các polypeptit đột biến Vip3D được thế alanin đơn và kép được mô tả trong Ví dụ 2 được thử nghiệm kháng sâu đục thân ngô châu Âu (ECB) và sâu xanh mùa thu (FAW) sử dụng phương pháp thử phần ăn nhân tạo được công nhận trong lĩnh vực. Tóm lại, mỗi dòng vô tính *E. coli* biểu hiện một trong số các polypeptit Vip3D đột biến được nuôi qua đêm. Nuôi cấy qua đêm đồng nhất dịch và lượng polypeptit hình thể tròn trong tế bào được xác định. Lượng cân bằng của dung dịch polypeptit từ mỗi dòng vô tính đột biến sau đó được áp dụng lên bề mặt của phần ăn của côn trùng nhân tạo (Bioserv, Inc., Frenchtown, NJ) trong các đĩa petri. Sau khi bề mặt phần ăn khô, ấu trùng ECB hoặc FAW được thêm vào mỗi tấm. Các tấm được đóng kín và giữ ở điệu kiện môi trường phòng thí nghiệm về nhiệt độ, ánh sáng và độ ẩm tương tối. Nhóm đối chứng dương chứa ấu trùng ECB hoặc FAW phơi nhiễm với polypeptit Vip3D kiểu dại. Nhóm đối chứng âm chứa ấu trùng ECB hoặc FAW phơi nhiễm với phần ăn côn trùng mà không có chất thử (chỉ có phần ăn) và phần ăn côn trùng được xử lý bằng dung dịch protein *E. coli* không chứa vectơ (có nghĩa là không có polypeptit Vip3D). Tỷ lệ tử vong được đánh giá sau khoảng 120 giờ và được cho điểm so với polypeptit Vip3D kiểu dại. Bất kỳ polypeptit thể hiện hoặc là tăng hoặc giảm hoạt tính được giữ lại. Các đột biến với thế không có tác dụng (có nghĩa là hoạt tính được so với Vip3D kiểu dại) hoặc không có polypeptit được biểu hiện bị loại bỏ.

Kết quả của thử nghiệm sinh học đối với alanin đột biến của Vip3D, một phần thể hiện trong bảng 6, cho thấy rằng sự đột biến alanin ở vị trí axit amin V338, K455, D471, Q495, R501, S543, I544, G580, P591, P605, H608, Y616, I617, H618, R635, K643, W658, P681, S712, I753, E760, V768A, S774, G775, và H779 có hoạt tính đặc hiệu cao hơn đáng kể kháng ECB so với polypeptit Vip3D kiểu dại mà các đột biến có nguồn gốc từ đó. Đột biến alanin ở vị trí E374, V415, T433, V438, E449, V480, L649, D672, N700, Y716, S722, N763, I780 và S781 được thấy không độc tính khác biệt đáng kể đối với ECB khi so với polypeptit Vip3D kiểu dại. Các polypeptit Vip3D có đột biến alanin ở vị trí axit amin L514, E546, T614, T724, T743, S744, T756, S761 T764, G778 và V785 được thấy có độc tính thấp đối với ECB khi so với polypeptit Vip3D kiểu dại. Ngoài ra, việc thế alanin của các axit amin ở vị trí M362, V372, F400 R465, L494, I503, S532, T600, N625, Y629, K650, N682, S683, G689, L701, M747, L766 và R773 đánh bại hoàn toàn hoạt tính ECB. Do đó, kết quả thể hiện rõ ràng rằng một số axit amin ở protein Vip3 giữ vai trò trong hoạt tính kháng ít nhất Sâu đục thân ngô châu Âu của protein. Hầu hết các đột biến alanin không có tác động lên hoạt tính FAW. Tuy nhiên, việc thế alanin tại các axit amin V372 và G689 đánh bại hoặc giảm đáng kể hoạt tính của Vip3D kháng FAW. Cùng các đột biến này đánh bại hoàn toàn hoạt tính ECB. Đây là dấu hiệu cho thấy rằng các axit amin này có thể giữ vai trò quan trọng trong độc tố Vip3 nói chung.

Bảng 6. Kết quả thử nghiệm sinh học của các polypeptit Vip3D đột biến alanin.

Hiệp đồng ẩn		
	Hoạt tính	
Đột biến	CB	AW
Vip3D (Bố mẹ)	+	++
V338A	++	++
V372A		
E374A	+	++
F400A		++
V415A	+	++
T433A	+	++
V438A	+	++

Hiệp đồng ẩn (tiếp)		
	Hoạt tính	
Đột biến	CB	AW
Vip3D (Bố mẹ)	+	++
K650A		++
W658A	++	++
N682A		++
T743A		++
V785A		++
Hiệp đồng		

Cần thiết		
	Hoạt tính	
Đột biến	CB	AW
Vip3D (Bố mẹ)	+	++
M362A	-	++
G689A	-	
D672A	+	++
N700A	+	++
S712A	++	++
Y716A	+	++
I753A	++	++

E449A	+	++			Hoạt tính			N763A	+	++
K455A	++	++		Đột biến	CB	AW		T764A	+	++
R465A		++		Vip3D				L766A	-	++
N470A	+	++		(Bố mẹ)	+	++		V768A	+ ++	++
D471A	++	++		P681A	++	++		G778A	+	++
V480A	+	+		S683A		++		I780A	+	++
L494A		++		L701A		++				
Q495A	++	++		S722A	+	++				
R501A	++	++		T724A		++				
I503A		++		S744A		++				
L514A		++		M747A		++				
S532A		++		T756A		++				
S543A	++	++		E760A	++	++				
I544A	++	++		S761A		++				
E546A		++		R773A		++				
G580A	++	++		S774A	++	++				
P591A	++	++		G775A	++	++				
T600A		++		H779A	++	++				
P605A	++	++		S781A	+	++				
H608A	++	++								
T614A		++								
Y616A	++	++								
I617A	++	++								
H618A	++	++								
N625A		++								
Y629A		++								
R635A	++	++								
K643A	++	++								
L649A	+	++								

Bảng 7 thể hiện các kết quả của thí nghiệm sinh học đột biến kép. Tất cả các đột biến kép duy trì hoạt tính kháng FAW của chúng. Đột biến kép K455A + V338A, I544A + S712A và H618A +T750A hoạt động kháng ECB và FAW như các đối chứng đột biến đơn của chúng. Tuy nhiên, đột biến kép S722A + S781A, S761A +S744A, S781A + S744A và S781A + T750A hoạt động kháng ECB ít hơn các đối chứng đột biến đơn của chúng. Ngoài ra, các đột biến kết hợp L701A + I721A đánh bại hoạt tính ECB ngay cả khi các đối chứng đột biến đơn của chúng có hoạt tính ECB cao hơn protein Vip3D kiểu dại.

Bảng 7. Các kết quả của các thí nghiệm sinh học đột biến kép.

Đột biến kép	Hoạt tính		Loại axit amin ở vị trí đột biến
	ECB	FAW	
Vip3D (Bố mẹ)	++	+++	
K455A + V338A	+++	+++	ẩn + ẩn
I544A + S712A	+++	+++	ẩn + chính
H618A + T750A	+++	+++	ẩn + hiệp đồng
L701A + I721A	-	+++	hiệp đồng + hiệp đồng
S722A + S781A	+	+++	hiệp đồng + hiệp đồng
S761A + S744A	+	+++	hiệp đồng + hiệp đồng
S781A + S744A	+	+++	hiệp đồng + hiệp đồng
S781A + T750A	+	+++	hiệp đồng + hiệp đồng

Ví dụ 4. Bện gốc

Các axit amin được xác định ở trên đóng vai trò thiết yếu trong hoạt tính ECB giờ được thay thế bởi bất kỳ một trong số 20 axit amin đã biết (ở đây gọi là "bện gốc"), để xác đinh ở vị trí thiết yếu axit amin hoạt động tốt nhất, ví dụ tạo ra polypeptit Vip3D có hoạt tính đặc hiệu cao hơn với ECB và/hoặc tăng phổ hoạt tính diệt sinh vật gây hại. Một số đặc tính axit amin có thể được sử dụng để dành ưu tiên mà các axit amin có thể được sử dụng trong các đột biến bện gốc. Ví dụ, các axit amin có thể được xếp hạng nhờ sự quan trọng đối với hiệu quả dương lên thụ thể ruột sinh vật đích liên kết với tính kỵ nước>nạp>kích thước.

Quy trình để tạo ra các thể đột biết bện gốc ở một số vị trí axit amin thường đồng nhất với quy trình được dùng để cấu thành alanin đột biến như được mô tả trong ví dụ 2, trừ khi các cặp đoạn mồi khác nhau được sử dụng. Các đoạn mồi được sử dụng trong đột biến bện gốc thường từ khoảng 27 đến khoảng 40 nucleotit chiều dài. Các đoạn mồi xuôi được thiết kế để biến đổi bazơ ở vị trí thứ nhất, thứ hai và/hoặc thứ

ba hoặc kết hợp bất kỳ của chúng, của codon *vip3D* nguyên bản được làm đột biến và thường có công thức chung sau: X_1NX_2, khi N là từ một đến ba bazơ đột biến của codon đột biến và khi X_1 là đoạn giãn liền kề của nucleotit 5' (các) bazơ vip3D tự nhiên được làm đột biến và X_2 là đoạn giãn liền kề của nucleotit 3' (các) bazơ vip3D tự nhiên được làm đột biến. Các đoạn mồi ngược là bổ sung ngược của các đoạn mồi xuôi. Ví dụ, nhưng không giới hạn, để biến đổi valin (V) ở vị trí 338 của SEQ ID NO: 1 với threonin (T), đoạn mồi xuôi 5'- CCTAATTATGCAAAAacTAAAGGAAGTGATGAAG-3' (SEQ ID NO:339) và đoạn mồi ngược 5'- CTTCATCACTTCCTTTAGTTTTTGCATAATTAGG-3' (SEQ ID NO:340) có thể được sử dụng, khi các trường hợp nhỏ "ac" trong các đoạn mồi xuôi nhắm đến các bazơ đột biến trong codon mã hóa V338. Các ví dụ về các đoạn mồi bổ sung được thiết kế theo cách này cho một số vị trí được làm đột biến bởi bện gốc được thể hiện trong bảng 8. Người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực hiểu rằng các trình tự đoạn mồi khác so với những trình tự mồi trình bày trong bảng 8 có thể được thiết kế và sử dụng theo cách này và bảng 8 chỉ đề xuất ví dụ không giới hạn của một số đoạn mồi hữu ích cho sáng chế. Sử dụng các ví dụ này, người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực này có thể gây đột biến vị trí bất kỳ trong protein quan tâm.

Bảng 8. Các đoạn mồi hữu dụng cho đột biến bện gốc

Tên	Đoạn mồi xuôi (5'→3')	SEQ ID NO:	Đoạn mồi ngược (5'→3')	SEQ ID NO:
V338S	CCTAATTATGCAAAAtcTAAAGGAAGTGATGAAG	339	CTTCATCACTTCCTTTAGATTTTGCATAATTAGG	340
V338T	CCTAATTATGCAAAAacTAAAGGAAGTGATGAAG	341	CTTCATCACTTCCTTTAGTTTTTGCATAATTAGG	342
V338N	CCTAATTATGCAAAAaaTAAAGGAAGTGATGAAG	343	CTTCATCACTTCCTTTATTTTTTGCATAATTAGG	344
V338Q	CCTAATTATGCAAAAcaaAAAGGAAGTGATGAAG	345	CTTCATCACTTCCTTTttGTTTTGCATAATTAGG	346
V338G	CCTAATTATGCAAAAGgTAAAGGAAGTGATGAAG	347	CTTCATCACTTCCTTTACCTTTTGCATAATTAGG	348
R465V	GAAGCGGAGTATgtAACGTTAAGTGCTAATG	349	CATTAGCACTTAACGTTACATACTCCGCTTC	350
R465L	GAAGCGGAGTATctAACGTTAAGTGCTAATG	351	CATTAGCACTTAACGTTAGATACTCCGCTTC	352
R465T	GAAGCGGAGTATAcAACGTTAAGTGCTAATG	353	CATTAGCACTTAACGTTGTATACTCCGCTTC	354
R465N	GAAGCGGAGTATAatACGTTAAGTGCTAATG	355	CATTAGCACTTAACGTATTATACTCCGCTTC	356

R465Q	GAAGCGGAGTATcaAACGTTAAGTGCTAATG	357	CATTAGCACTTAACGTTTGATACTCCGCTTC	358
D471V	GTTAAGTGCTAATGtTGATGGAGTGTATATGC	359	GCATATACACTCCATCAACATTAGCACTTAAC	360
D471I	GTTAAGTGCTAATatTGATGGAGTGTATATGC	361	GCATATACACTCCATCAATATTAGCACTTAAC	362
D471N	GTTAAGTGCTAATaaTGATGGAGTGTATATGC	363	GCATATACACTCCATCATTATTAGCACTTAAC	364
D471Q	GTTAAGTGCTAATcAaGATGGAGTGTATATGC	365	GCATATACACTCCATCTTGATTAGCACTTAAC	366
D471R	GTTAAGTGCTAATcgTGATGGAGTGTATATGC	367	GCATATACACTCCATCACGATTAGCACTTAAC	368
K455V	GAAATTGACTTAAATAAGgtAAAAGTAGAATCAAGTG	369	CACTTGATTCTACTTTTACCTTATTTAAGTCAATTTC	370
K455I	GAAATTGACTTAAATAAGAtAAAAGTAGAATCAAGTG	371	CACTTGATTCTACTTTTATCTTATTTAAGTCAATTTC	372
K455G	GAAATTGACTTAAATAAGggAAAAGTAGAATCAAGTG	373	CACTTGATTCTACTTTTCCCTTATTTAAGTCAATTTC	374
K455S	GAAATTGACTTAAATAAGtcAAAAGTAGAATCAAGTG	375	CACTTGATTCTACTTTTGACTTATTTAAGTCAATTTC	376
K455N	GAAATTGACTTAAATAAGAAcAAAGTAGAATCAAGTG	377	CACTTGATTCTACTTTGTTCTTATTTAAGTCAATTTC	378
K455E	GAAATTGACTTAAATAAGgAAAAAGTAGAATCAAGTG	379	CACTTGATTCTACTTTTTCCTTATTTAAGTCAATTTC	380
F400Q	GATACGGATAAATTAcagTGTCCAGATCAATC	381	GATTGATCTGGACACTGTAATTTATCCGTATC	382
F400S	GATACGGATAAATTAtctTGTCCAGATCAATC	383	GATTGATCTGGACAAGATAATTTATCCGTATC	384
F400M	GATACGGATAAATTAatgTGTCCAGATCAATC	385	GATTGATCTGGACACATTAATTTATCCGTATC	386
F400W	GATACGGATAAATTAtggTGTCCAGATCAATC	387	GATTGATCTGGACACCATAATTTATCCGTATC	388
F400Y	GATACGGATAAATTAtatTGTCCAGATCAATC	389	GATTGATCTGGACAATATAATTTATCCGTATC	390
F400E	GATACGGATAAATTAgagTGTCCAGATCAATC	391	GATTGATCTGGACACTCTAATTTATCCGTATC	392
F400R	GATACGGATAAATTAcgtTGTCCAGATCAATC	393	GATTGATCTGGACAACGTAATTTATCCGTATC	394
N700E	GAAATAAACTTTTCATTgagTTGGGGACAAATGG	395	CCATTTGTCCCCAACTCAATGAAAAGTTTATTTC	396
N700R	GAAATAAACTTTTCATTcgcTTGGGGACAAATGG	397	CCATTTGTCCCCAAGCGAATGAAAAGTTTATTTC	398
N700S	GAAATAAACTTTTCATTagtTTGGGGACAAATGG	399	CCATTTGTCCCCAAACTAATGAAAAGTTTATTTC	400
N700L	GAAATAAACTTTTCATTctcTTGGGGACAAATGG	401	CCATTTGTCCCCAAGAGAATGAAAAGTTTATTTC	402
N700M	GAAATAAACTTTTCATTatgTTGGGGACAAATGG	403	CCATTTGTCCCCAACATAATGAAAAGTTTATTTC	404
N700W	GAAATAAACTTTTCATTtggTTGGGGACAAATGG	405	CCATTTGTCCCCAACCAAATGAAAAGTTTATTTC	406
N700Y	GAAATAAACTTTTCATTtacTTGGGGACAAATGG	407	CCATTTGTCCCCAAGTAAATGAAAAGTTTATTTC	408
N700F	GAAATAAACTTTTCATTttcTTGGGGACAAATGG	409	CCATTTGTCCCCAAGAAAATGAAAAGTTTATTTC	410
V768M	AATACCGGATTATATatgGAACTTTCCCGTCGC	411	GCGACGGGAAAGTTCCATATATAATCCGGTATT	412

V768W	AATACCGGATTATATtggGAACTTTCCCGTCGC	413	GCGACGGGAAAGTTCCCAATATAATCCGGTATT	414
V768Y	AATACCGGATTATATtatGAACTTTCCCGTCGC	415	GCGACGGGAAAGTTCATAATATAATCCGGTATT	416
V768E	AATACCGGATTATATgaaGAACTTTCCCGTCGC	417	GCGACGGGAAAGTTCTTCATATAATCCGGTATT	418
V768R	AATACCGGATTATATcgaGAACTTTCCCGTCGC	419	GCGACGGGAAAGTTCTCGATATAATCCGGTATT	420
V768Q	AATACCGGATTATATcaaGAACTTTCCCGTCGC	421	GCGACGGGAAAGTTCTTGATATAATCCGGTATT	422
V768T	AATACCGGATTATATACAGAACTTTCCCGTCGC	423	GCGACGGGAAAGTTCTGTATATAATCCGGTATT	424
L494M	GATAAATGGGTTTGGCatgCAAGCTGATGAAAATTC	425	GAATTTTCATCAGCTTGCATGCCAAACCCATTTATC	426
L494W	GATAAATGGGTTTGGCtggCAAGCTGATGAAAATTC	427	GAATTTTCATCAGCTTGCCAGCCAAACCCATTTATC	428
L494Y	GATAAATGGGTTTGGCtacCAAGCTGATGAAAATTC	429	GAATTTTCATCAGCTTGGTAGCCAAACCCATTTATC	430
L494E	GATAAATGGGTTTGGCgagCAAGCTGATGAAAATTC	431	GAATTTTCATCAGCTTGCTCGCCAAACCCATTTATC	432
L494R	GATAAATGGGTTTGGCcgcCAAGCTGATGAAAATTC	433	GAATTTTCATCAGCTTGGCGGCCAAACCCATTTATC	434
L494Q	GATAAATGGGTTTGGCcagCAAGCTGATGAAAATTC	435	GAATTTTCATCAGCTTGCTGGCCAAACCCATTTATC	436
L494T	GATAAATGGGTTTGGCaccCAAGCTGATGAAAATTC	437	GAATTTTCATCAGCTTGGGTGCCAAACCCATTTATC	438
L642E	TTACTACAGGAACTGATgaaAAGGGAGTGTATTT	439	AAATACACTCCCTTTTCATCAGTTCCTGTAGTAA	440
L642M	TTACTACAGGAACTGATatgAAGGGAGTGTATTT	441	AAATACACTCCCTTCATATCAGTTCCTGTAGTAA	442
L642N	TTACTACAGGAACTGATaatAAGGGAGTGTATTT	443	AAATACACTCCCTTATTATCAGTTCCTGTAGTAA	444
L642R	TTACTACAGGAACTGATcgaAAGGGAGTGTATTT	445	AAATACACTCCCTTTCGATCAGTTCCTGTAGTAA	446
L642S	TTACTACAGGAACTGATtcaAAGGGAGTGTATTT	447	AAATACACTCCCTTTGAATCAGTTCCTGTAGTAA	448
L642W	TTACTACAGGAACTGATtggAAGGGAGTGTATTT	449	AAATACACTCCCTTCCAATCAGTTCCTGTAGTAA	450
L642Y	TTACTACAGGAACTGATtatAAGGGAGTGTATTT	451	AAATACACTCCCTTATAATCAGTTCCTGTAGTAA	452

Ví dụ 5. Thí nghiệm sinh học của các thể đột biến bện gốc

Các thể đột biến bện gốc Vip3D được mô tả trong ví dụ 4 được thử kháng sâu đục thân ngô châu Âu (ECB) như mô tả ở trên. Nhiều đột biến được thử trong hai thử nghiệm sinh học riêng biệt và nhiều đột biến được thử trong ba thử nghiệm sinh học riêng biệt. Hoạt tính sinh học so với đột biến alanin ở cùng vị trí. Kết quả từ một số

trong các thử nghiệm sinh học này được thể hiện trong bảng 9. Gốc sợi so với các kết quả đột biến alanin (tế bào được che bóng) từ ví dụ 3.

Bảng 9. Hoạt tính sinh học của các đột biến gốc sợi kháng sâu đục thân ngô châu Âu

Đột biến bện gốc	Hoạt tính ECB	Đột biến bện gốc	Hoạt tính ECB	Đột biến bện gốc	Hoạt tính ECB
V338A	+++	D471A	+++	M747A	-
V338N	+++	D471N	+++	M747W	+
V338T	+++	D471T	+++	M747Y	-
V338P	+++	D471I	++	M747S	-
V338G	+++	D471Q	++	M747K	-
V338W	+	D471V	+	M747E	-
V338Y	+	S532A	-	M747C	-
V338S	+	S532N	+++	M747Q	-
V338L	+	S532Y	++	L766A	-
V338K	+	S532K	+++	L766T	+
V338I	-	S532M	+++	L766P	++
V338M	+	S532C	-	L766G	+
V338E	++	S532D	+++	L766W	++
V338C	+	I544A	+++	L766S	++
V338Q	++	I544N	+++	L766K	+
V338F	++	H608A	+++	L766I	+
V338D	++	H608L	+++	L766M	+
K455A	+++	Y629A	-	L766E	++
K455N	+	Y629W	-	L766C	++
K455T	++	Y629S	-	L766F	++
K455G	+++	Y629K	-	L766R	++
K455I	+++	Y629E	-	G580A	+
K455E	+++	Y629Q	-	G580N	++
R465A	-	Y629F	++	G580T	++
R465N	++	R635A	+++	G580P	+

V465T	+		R635S	++		G580W	+++
V465P	+		K643A	+++		G580Y	++
V465G	+		K643S	+++		G580S	++
V465W	++		L649A	++		G580K	++
V465Y	+		L649W	-		G580M	++
V465S	++		L649S	-		G580C	++
V465L	++		L649R	-		G580H	++
V465K	++		S683A	-		G580L	++
V465I	++		S683N	-		G580E	+++
V465M	++		S683Y	-		K650A	-
V465E	++		S683K	-		K650N	++
V465C	++		S683M	-			
V465Q	++		S683C	-			
V465F	-		S683D	-			
V465D	++						

Ví dụ 6. Kiểm tra nâng cao của đột biến Vip3

Một số tiêu chuẩn không giới hạn có thể được sử dụng để lựa chọn các polypeptit đột biến được mô tả trong phần Ví dụ ở trên để kiểm tra và đánh giá thêm. Các đột biến được nâng cao có: (1) Hoạt tính ECB cải thiện; (2) không có tác dụng tiêu cực lên hoạt tính FAW; (3) khả năng để biểu hiện trong *E. coli*; và (4) không quan sát thấy bất ổn.

Trên cơ sở các tiêu chuẩn này, 12 polypeptit đột biến Vip3D đơn bao gồm V338A, K455A, K455G, R465L, S532D, S532Y, I5444A, G580A, S712A, E760A, L766W và V768A được kiểm tra trong ít nhất ba thử nghiệm sinh học tiếp kháng ECB chủ yếu như được mô tả ở trên ở nồng độ polypeptit bằng 300ng/cm^2 cho phần ăn. Các kết quả được thể hiện trong bảng 10.

Bảng 10. Hoạt tính sinh học của thể đột biến Vip3 kháng sâu đục thân ngô châu Âu

Thể đột biến Vip3D	% khoảng chết		Thể đột biến Vip3D	% khoảng chết

V338A	>90		I544A	>90
K455A	>90		G580A	50-90
K455G	50-90		S712A	>90
R465L	50-90		E760A	>90
S532D	50-90		L766W	50-90
S532Y	50-90		V768A	>90

Sáu đột biến tạo ra chủ yếu >90% ECB tử vong được nâng cao để xác định LC_{50} (nồng độ gây chết cần để gây chết 50% côn trùng phơi nhiễm) của polypeptit được thiết kế.

Ví dụ 7. Xác định LC50 của polypeptit được thiết kế đã chọn

Phân tử axit nucleic mã hóa mỗi polypeptit đột biến được tách dòng vào vectơ pTrcHis TOPO® (Invitrogen Corp., Carlsbad, CA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Vectơ pTrcHis TOPO® có HisG epitop và 6x đầu N đoạn His với trình tự mã hóa đột biến để dò và tinh chế polypeptit tái tổ hợp. Vectơ đột biến pTrcHis-Vip3D được biến nạp vào E. coli sử dụng chủ yếu theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Mỗi dòng vô tính *E. coli* được nuôi ở 37° C, được cảm ứng sử dụng IPTG, các tế bào được thu hoạc và lysat được điều chế theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các polypeptit đột biến được tinh chế sử dụng hệ tinh chế ProBond™ (Invitrogen Corp.), mà được thiết kế để tinh chế các polypeptit tái tổ hợp đánh dấu 6xHis được biểu hiện trong vi khuẩn, chủ yếu theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các polypeptit đột biến được tinh chế được định lượng và sử dụng để xác định LC_{50}.

Mỗi polypeptit đột biến được kiểm tra ở các nồng độ phức trong các thử nghiệm sinh học ECB chủ yếu như được mô tả ở trên. Phân tích probit được sử dụng để tính toán LC_{50} cho mỗi polypeptit đột biến. Bảng 11 thể hiện các giá trị LC_{50} cho sáu polypeptit đột biến so với Vip3D kiểu dại, cũng như Vip3C (SEQ ID NO: 17) và Vip3A (SEQ ID NO: 15), cả hai đều là thành viên của nhóm polypeptit Vip3 liên quan chặt chẽ với Vip3D.

Bảng 11. Hoạt tính đặc hiệu của các polypeptit đột biến kháng ECB và FAW

	LC_{50} ($\mu g/cm_2$) của các polypeptit Vip3 kiểu dại và đột biến

Các loài côn trùng	Vip3A	Vip3C	Vip3D	V338A	K455A	I544A	S712A	E760A	V768A
ECB	Bất hoạt	0,5	0,45	0,47	0,19	0,21	0,18	0,21	0,15
FAW	0,20	0,34	0,15	1,18	0,11	0,94	1,78	1,03	0,43

Các kết quả thể hiện rằng năm trong số các polypeptit Vip3D đột biến được chọn có LC_{50} thấp hơn 2-3 lần kháng Sâu đục thân ngô Châu Âu (ECB) so với Vip3D kiểu dại, mà tăng đáng kể khả năng thành công chúng có thể là liều cao trong quản lý ECB. Một đột biến, V338A, có cùng LC_{50} xấp xỉ kháng ECB so với polypeptit Vip3D kiểu dại. Thú vị là, hầu hết các đột biến có LC_{50} kháng sâu xanh mùa thu (FAW) cao hơn so với kiểu dại. Một đột biến, K455A, có LC50 thấp hơn kháng FAW. Do đó, đột biến K455 làm tăng hoạt tính đặc hiệu của Vip3D polypeptit kiểu dại bố mẹ đối với cả ECB và FAW.

Ví dụ 8. Biệt hóa Vip3E

Đột biến Vip3D-K455A được phân tích thêm. Sử dụng chất chiết từ ruột côn trùng bộ cánh vảy, vị trí cụ thể này, K455, được xác định là "điểm nóng" trong Vip3A và Vip3D đã công nhận enzym ruột của bộ cánh vảy làm giảm polypeptit. Bằng cách loại "điểm nóng" này (có nghĩa là bằng cách tạo ra đột biến K→A), làm giảm polypeptit Vip3 bởi serin proteaza có thể bị chặn, nhờ đó giúp ổn định polypeptit Vip3 trong ruột côn trùng và cho phép nó có thêm thời gian hoạt động (ví dụ, gây chết hoặc không thì kiểm soát côn trùng). Đột biến Vip3D-K455A được gọi là Vip3E.

Các thử nghiệm khác của Vip3E thể hiện rằng ở 3µg/cm^2, polypeptit có: (1) hoạt tính cao (tỷ lệ chết 100%) đối với sâu đục thân ngô châu Âu, sâu xanh mùa thu, sâu xám (*Agrotis ipsilon*), sâu đục quả bông (*Helicoverpa zea*), sâu xanh da láng (*Spodoptera exigua*) và sâu tơ (*Plutella xylostella*); (2) hoạt tính vừa phải (>50% tỷ lệ tử vong và ức chế phát triển đáng kể) kháng sâu đục quả màu hồng (*Pectinophora gossypiella*), và sâu đục chồi ở cây thuốc lá (*Heliothis virescens*), gây ra một số tử vong, ức chế sinh trưởng và/hoặc sinh sản; và (3) không có hoạt tính chống ruồi bướm chúa (*Danaus plexippus*), côn trùng bộ cánh vảy có lợi cho môi trường, hoặc sinh vật gây hại cánh cứng, sâu cắn rễ ngô phương tây (*Diabrotica virgifera*) và mọt Colorado hại khoai tây (*Leptinotarsa decemlineata*).

Ví dụ 9. Biểu hiện của Vip3E trong thực vật

Polynucleotit tối ưu ở ngô tổng hợp (SEQ ID NO:454) mã hóa polypeptit Vip3E được biến nạp vào cây ngô. Đối với ví dụ này, caset biểu hiện thứ nhất được thực hiện bao gồm promotơ ubiquitin ở ngô (Ubi1) liên kết hoạt động với trình tự mã hóa Vip3E mà liên kết hoạt động với đoạn kết thúc Nos và caset biểu hiện thứ hai được thực hiện bao gồm promotơ Ubi1 liên kết hoạt động với phosphomanoza isomeraza (PMI) trình tự mã hóa liên kết hoạt động với đoạn kết thúc Nos. Biểu hiện của PMI cho phép chọn lọc dương tính thực vật chuyển gen trên manoza. Cả caset biểu hiện được tách dòng thành vectơ thích hợp để biến nạp ngô qua trung gian Agrobacterium. Vectơ thu được được chỉ định là pSYN12225 (Fig. 1).

Biến nạp phôi ngô non được thực hiện chủ yếu được mô tả trong Negrotto et al., 2000, Plant Cell Rep 19:798-803. Một cách ngắn gọn, chủng Agrobacterium LBA4404 (pSB1) chứa pSYN12225 được nuôi trên YEP (chất chiết nấm men (5g/L), pepton (10g/L), NaCl (5g/L), 15g/l aga, pH 6,8) môi trường rắn trong 2-4 ngày ở 28°C. Xấp xỉ 0,8X 10^9 tế bào Agrobacterium được tạo huyền phù trong môi trường LS-inf được bổ sung 100µM As. Vi khuẩn được cảm ứng trước trong môi trường này trong khoảng 30-60 phút.

Phôi non từ ngô nội phối JHAX707 được cắt bỏ từ các hạt 8-12 ngày tuổi vào LS-inf + 100 µM As lỏng. Phôi được rửa một lần với môi trường nhiễm trùng mới. Dung dịch Agrobacterium sau đó được thêm và phôi được xoáy nước trong 30 giây và cho phép xử lý với vi khuẩn này trong 5 phút. Sau đó phôi được chuyển phần hình khiên đến môi trường LSAs và được nuôi cấy trong bóng tối hai đến ba ngày. Tiếp theo, khoảng từ 20 đến 25 phôi mỗi đĩa petri được chuyển vào môi trường LSDc có bổ sung xefotaxim (250mg/l) và bạc nitrat (1,6mg/l) và nuôi cấy trong bóng tối ở xấp xỉ 28°C trong 10 ngày.

Phôi non, mô sẹo phát sinh phôi thu được được chuyển vào môi trường LSD1M0.5S. Nuôi cấy được lựa chọn trên môi trường này trong xấp xỉ 6 tuần với bước nuôi phụ ở khoảng 3 tuần. Mô sẹo sống sót được chuyển vào môi trường Reg1 có bổ sung manoza. Sau khi nuôi cấy trong ánh sáng (chế độ 16 giờ sáng/ 8 giờ tối), mô xanh sau đó được chuyển vào môi trường Reg2 mà không có chất điều hòa tăng trưởng và được ủ trong khoảng 1-2 tuần. Cây non được chuyển vào Magenta GA-7

boxes (Magenta Corp, Chicago Ill.) chứa môi trường Reg3 và lớn lên dưới ánh sáng. Sau khoảng 2-3 tuần, cây được kiểm sa sự có mặt của các gen PMI và gen vip3E bằng PCR. Các cây dương tính từ thử nghiệm PCR được chuyển vào nhà kính và kiểm tra tính kháng các côn trùng gây hại.

Ví dụ 10. Phân tích cây ngô chuyển gen

Cây được lấy mẫu là cây được trồng lại từ hộp Magenta GA-7 vào đất. Mẫu chứa cành giâm hai mảnh nhỏ lá (dài khoảng 2-4 cm) và đặt mỗi cành trong một đĩa petri. Nồng độ protein Vip3E được xác định trên lá từ các cây giống nhau. Đối chứng âm hoặc là thực vật chuyển gen là PCR âm tính với gen *vip3E* từ cùng thử nghiệm, hoặc từ thực vật không chuyển gen (có kích thước tương tự cây kiểm tra) lớn lên dưới các điều kiện tương tự.

Mẫu lá từ mỗi cây được chủng ngừa hoặc là sâu đục thân ngô châu Âu (*Ostrinia nubilalis*) hoặc sâu xanh mùa thu (*Spodoptera frugiperda*) bằng cách đặt 10 ấu trùng hình sao đầu tiên lên mỗi mảnh lá. Các đĩa petri sau đó được đậy kín.

Dữ liệu thử nghiệm sinh học được thu ở khoảng 3-4 ngày sau khi nhiễm. Tỷ lệ phần trăm chết của ấu trùng được tính cùng với tỷ lệ thiệt hại nhìn thấy của lá. Thiệt hại nuôi dưỡng được đánh giá cao, vừa phải, thấp, hoặc không có và đưa ra giá trị số bằng 3, 2, 1 hoặc 0, tương ứng.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 12 chỉ ra rằng cây ngô chuyển gen chứa polynucleotit vip3E và biểu hiện polypeptit Vip3E, là diệt côn trùng đối với ít nhất Sâu đục thân ngô châu Âu (ECB) và sâu xanh mùa thu (FAW). Một số sự kiện biểu hiện Vip3E cũng có hoạt tính kháng sâu xám (*Agrotis ipsilon*) và sâu đục quả bông (*Helicoverpa zea*). Nồng độ protein Vip3E trong các sự kiện này nằm trong khoảng 450-1000 µg/mg protein hòa tan.

Bảng 12. Hiệu quả của ngô chuyển gen biểu hiện Vip3E

Sự việc	ECB % Chết	ECB Thiệt hại nuôi dưỡng	FAW % Chết	FAW Thiệt hại nuôi dưỡng
1302A9A	100	0,5	100	0

1302A8A	100	1	100	0
1301A9A	95	1,5	100	0
1301A5A	100	0,5	100	0
1301A6A	100	1	100	0
1301A2A	100	0	100	0
1304A11A	100	0	100	0
1304A13A	100	0,5	100	0
Kiểm soát Neg	0	3	0	3

Ví dụ 11. Polypeptit được thiết kế cải thiện có thể tăng tốc độ gây chết

Polypeptit được thiết kế theo sáng chế có nhiều chức năng, sử dụng và hoạt tính. Ví dụ, polypeptit được thiết kế theo sáng chế có thể thúc đẩy tốc độ gây chết so với các polypeptit kiểu dại kháng sinh vật gây hại đích. Trong ví dụ này, polypeptit được thiết kế và Vip3D kiểu dại được thử nghiệm kháng sâu đục quả bông (CEW; *Helicoverpa zea*) ở xấp xỉ cùng nồng độ polypeptit và tỷ lệ tử vong CEW được ghi sau 120 hr.

Các kết quả được thể hiện trong bảng 13. Một số polypeptit được thiết kế tạo ra tốc độc gây chết nhanh hơn Vip3D kiểu dại. Ví dụ, các đột biến S761A, T750A, S683A và T686A gây ra 58-64% chết sau 120 hr so với 33% chết gây ra bởi Vip3D kiểu dại.

Bảng 13. Kết quả thử nghiệm kinh học tốc độ gây chết

Đột biến	Tỷ lệ phần trăm chết (120 hr)
P681A	27
S683A	58
T686A	58
S691A	0
L701A	0

I721A	8
S722A	0
S744A	46
M747A	42
T750A	64
T756A	50
S761A	58
Vip3D	33
Đối chứng âm	0

Ví dụ 12. Các phương pháp như được áp dụng để tạo các polypeptit tái tổ hợp khác

Các phương pháp được mô tả ở trên có thể được sử dụng để xác định các vị trí axit amin đích để phân tích đột biến trong polypeptit bất kỳ khi 1) một hoặc nhiều thành viên trong họ có hoạt tính vừa phải đến cao kháng sinh vật gây hại đích; và 2) một hoặc nhiều thành viên trong cùng họ có hoạt tính thấp đến không có hoạt tính kháng cùng sinh vật gây hại đích. Ví dụ, các phương pháp này có thể được áp dụng cho các protein Cry của *Bacillus thuringiensis* để cải thiện hoạt tính diệt côn trùng của nó kháng (các) sinh vật gây hại đích. Ví dụ, nhưng không giới hạn ở, các phương pháp này có thể được áp dụng cho nhóm Cry2A của các protein Cry Bt.

Cry2Aa (SEQ ID NO: 455) và Cry2Ab (SEQ ID NO: 456) đều có hoạt tính vừa phải kháng một số loài Heliothine. Tuy nhiên, Cry2Ac (SEQ ID NO: 457), thành viên có quan hệ gần gũi với họ Cry2A, có hoạt tính đặc hiệu thấp kháng nhiều sinh vật gây hại này, cụ thể là các loài *Helicoverpa*.

Các độc tính tương đối (LC_{50} (ng/cm^2)) của protein Cry2A đối với các loài Heliothine được báo cáo trong Liao *et al.,* 2002. J Invert. Pathol., 80: 55-63 như sau: (1) Helicoverpa armigera: Cry2Aa=149, Cry2Ab=421 và Cry2Ac=1678; (2) *Helicoverpa punctigera*: Cry2Aa=52, Cry2Ab=412 và Cry2Ac=6205; (3) *Helicoverpa zea*: Cry2Aa=114-4043, Cry2Ab=61 và Cry2Ac=Không được xác định; và (4) *Helicoverpa virescens*: Cry2Aa=15.1, Cry2Ab=20.6 và Cry2Ac=120.

Để cải thiện hoạt tính của Cry2Ab kháng ít nhất một số loài *Helicoverpa*, cả ba trình tự axit amin có thể thẳng hàng như thể hiện trong bảng 10. Trên cơ sở các tiêu chuẩn được mô tả ở trên, các vị trí axit amin có thể được phân loại thành "chính" (bôi đậm trong bảng 14), "hiệp đồng" (* trong bảng 14), hoặc "hiệp đồng ẩn" (gạch chân trong bảng 14) để các định các axit amin chủ chốt để đột biến như được mô tả ở trên. Phân loại được thể hiện trong bảng 15. Đánh số các gốc axit amin bảng 15 là dựa trên trình tự axit amin của Cry2Ab (SEQ ID NO:45).

Bảng 14. Sắp thẳng hàng 2 trình tự axit amin Cry

Sắp thẳng hàng: Sắp thẳng hàng protein tổng so với phân tử tham chiếu

Thông số: Ma trận điểm: BLOSUM 62

Phân tử tham chiếu: Cry2Aa, Vùng 1-633

Số trình tự được sắp thẳng hàng: 3

Vị trí	Trình tự	Bắt đầu	Kết thúc	Chiều dài	Tương hợp	%Đồng nhất
Ref 1	Cry2Aa (SEQ ID NO:457)	1	633	633 aa		
2	Cry2Ac (SEQ ID NO:359)	1	622	622 aa	508	80
3	Cry2Ab (SEQ ID NO:358)	1	633	633 aa	556	87

```
                    *                                   *

Cry2Aa        1 MNNVLNSGRTTICDAYNVVAHDPFSFEHKSLDTIQKEWMEWKRTDHSLYV
Cry2Ac        1 MNTVLNNGRNTTCHAHNVVAHDPFSFEHKSLNTIEKEWKEWKRTDHSLYV
Cry2Ab        1 MNSVLNSGRTTICDAYNVAAHDPFSFQHKSLDTVQKEWTEWKKNNHSLYL

                        *                   *

Cry2Aa       51 APVVGTVSSFLLKKVGSLIGKRILSELWGIIFPSGSTNLMQDILRETEQF
Cry2Ac       51 APIVGTVGSFLLKKVGSLVGKRILSELQNLIFPSGSIDLMQEILRATEQF
Cry2Ab       51 DPIVGTVASFLLKKVGSLVGKRILSELRNLIFPSGSTNLMQDILRETEKF

                                    *       *

Cry2Aa      101 LNQRLNTDTLARVNAELIGLQANIREFNQQVDNFLNPTQNPVPLSITSSV
Cry2Ac      101 INQRLNADTLGRVNAELAGLQANVAEFNRQVDNFLNPNQNPVPLAIIDSV
Cry2Ab      101 LNQRLNTDTLARVNAELTGLQANVEEFNRQVDNFLNPNRNAVPLSITSSV
```

```
                                                  *
Cry2Aa     151 NTMQQLFLNRLPQFQIQGYQLLLLPLFAQAANMHLSFIRDVILNADEWGI
Cry2Ac     151 NTLQQLFLSRLPQFQIQGYQLLLLPLFAQAANFNLSFIRGVILNADEWGI
Cry2Ab     151 NTMQQLFLNRLPQFQMQGYQLLLLPLFAQAANLHLSFIRDVILNADEWGI

Cry2Aa     201 SAATLRTYRDYLRNYTRDYSNYCINTYQTAFRGLNTRLHDMLEFRTYMFL
Cry2Ac     201 SAATVRTYRDHLRKFHRDYSNYCINPYQTAFRGLNHRLPDMLEFRTYMFL
Cry2Ab     201 SAATLRTYRDYLKNYTRDYSNYCINTYQSAFKGLNTRLHDMLEFRTYMFL

Cry2Aa     251 NVFEYVSIWSLFKYQSLMVSSGANLYASGSGPQQTQSFTAQNWPFLYSLF
Cry2Ac     251 NVFEYVSIWSLFKYQSLLVSSGANLYASGSGP--TQSFTAQNWPFLYSLF
Cry2Ab     251 NVFEYVSIWSLFKYQSLLVSSGANLYASGSGPQQTQSFTSQDWPFLYSLF

                       *                        * **            *
Cry2Aa     301 QVNSNYILSGISGTRLSITFPNIGGLPGSTTTHSLNSARVNYSGGVSSGL
Cry2Ac     299 QVNSNYVLNGLSGARTTITFPNIGGLPVYHNS-TLHFARINYRGGVSSSR
Cry2Ab     301 QVNSNYVLNGFSGARLSNTFPNIVGLPGSTTTHALLAARVNYSGGISSGD

                         *          *     *
Cry2Aa     351 IGATNLNHNFNCSTVLPPLSTPFVRSWLDSGTDREGVATSTNWQTESFQT
Cry2Ac     348 IGQANLNQNFNISTLFNPLQTPFIRSWLDSGTDREGVATSTNWQSGAFET
Cry2Ab     351 IGASPFNQNFNCSTFLPPLLTPFVRSWLDSGSDREGVATVTNWQTESFET

                        * *                                *
Cry2Aa     401 TLSLRCGAFSARGNSNYFPDYFIRNISGVPLVIRNEDLTRPLHYNQIRNI
Cry2Ac     398 TL-LRFSIFSARGNSNFFPDYFIRNISGVVGTISNADLARPLHFNEIRDI
Cry2Ab     401 TLGLRSGAFTARGNSNYFPDYFIRNISGVPLVVRNEDLRRPLHYNEIRNI

                     *                          *
Cry2Aa     451 ESPSGTPGGARAYLVSVHNRKNNIYAANENGTMIHLAPEDYTGFTISPIH
Cry2Ac     447 ----GTT--AVASLVTVHNRKNNIYDTHENGTMIHLAPNDYTGFTVSPIH
Cry2Ab     451 ASPSGTPGGARAYMVSVHNRKNNIHAVHENGSMIHLAPNDYTGFTISPIH
```

```
Cry2Aa      501 ATQVNNQTRTFISEKFGNQGDSLRFEQSNTTARYTLRGNGNSYNLYLRVS
Cry2Ac      491 ATQVNNQIRTFISEKYGNQGDSLRFELSNPTARYTLRGNGNSYNLYLRVS
Cry2Ab      501 ATQVNNQTRTFISEKFGNQGDSLRFEQNNTTARYTLRGNGNSYNLYLRVS

Cry2Aa      551 SIGNSTIRVTINGRVYTVSNVNTTTNNDGVNDNGARFSDINIGNIVASDN
Cry2Ac      541 SIGSSTIRVTINGRVYT-ANVNTTTNNDGVLDNGARFSDINIGNVVASAN
Cry2Ab      551 SIGNSTIRVTINGRVYTATNVNTTTNNDGVNDNGARFSDINIGNVVASSN

Cry2Aa      601 TNVTLDINVTLNSGTPFDLMNIMFVPTNLPPLY
Cry2Ac      590 TNVPLDIQVTFNGNPQFELMNIMFVPTNLPPLY
Cry2Ab      601 SDVPLDINVTLNSGTQFDLMNIMLVPTNISPLY
```

Bảng 15. Các vị trí axit amin được xác định để làm đột biến cho thiết kế Cry2Ab

Chính						
S7	T107	Y215	A337	L404	T456	V603
S10	A111	T216	V340	G413	V467	P604
I12	S145	T226	I346	I426	L486	I607
D14	T147	T236	D350	S427	P498	
Y16	S148	H239	N359	G428	N506	
D32	M153	A314	S363	P430	G517	
Q35	N159	R315	T364	V432	G520	
T87	H184	L326	T371	R440	N544	
N88	D190	P327	N392	N445	N570	
D92	L205	G328	W393	N449	A597	
E96	Y211	S329	Q394	A451	N600	
L101	N214	T330	G403	P453	D602	
Hiệp đồng						
S3	E125	A334	L402			
T39	L183	S347	N435			

A58	N309	I351	H468	
R78	T331	C362	D589	
T118	H333	P367		
Hiệp đồng ẩn				
A19	K99	S290	E396	I590
Q27	V124	N305	G407	N591
V34	R129	V307	V429	G593
K43	N138	S312	L442	L605
N44	R139	L316	S454	S613
N45	A141	N322	S466	D618
L50	M166	S343	N469	L619
D51	K213	G352	N472	
I53	S229	A353	E479	
V69	K232	P355	N518	
N79	L268	D379	R558	
L80	F288	V387	V585	

Cần hiểu rằng các ví dụ và phương án được mô tả ở đây là chỉ nhằm mục đích minh họa và nhiều cải biến hoặc biến đổi theo đó sẽ được gợi ý cho người có hiểu biết trung bình trong lĩnh vực và đều bao hàm trong phạm vi của sáng chế và phạm vi của các yêu cầu bảo hộ kèm theo.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế bao gồm trình tự axit amin có độ đồng nhất ít nhất 95% so với SEQ ID NO:1 và còn bao gồm một đột biến axit amin ở vị trí tương ứng với vị trí K455 trong SEQ ID NO: 1, trong đó đột biến này cải thiện hoạt tính diệt sinh vật gây hại của polypeptit được thiết kế kháng ít nhất *Ostrinia nubilalis* (sâu đục thân ngô châu Âu, ECB) so với hoạt tính diệt ECB của polypeptit kiểu dại mà polypeptit được thiết kế có nguồn gốc từ đó.

2. Polypeptit diệt sinh vật gây hại được thiết kế theo điểm 1, trong đó đột biến axit amin đã nêu là đột biến K455A.

3. Phân tử axit nucleic tái tổ hợp bao gồm trình tự nucleotit mã hóa cho polypeptit theo điểm 1 hoặc điểm 2, tùy ý trong đó trình tự nucleotit đã nêu được kết hợp hoạt động với promotơ.

4. Vectơ tái tổ hợp bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 3.

5. Tế bào chủ chuyển gen không phải của người, tùy ý là tế bào chủ vi khuẩn chuyển gen hoặc tế bào chủ thực vật chuyển gen, bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 3.

6. Thực vật chuyển gen bao gồm tế bào thực vật theo điểm 5, trong đó thực vật này được chọn từ nhóm bao gồm lúa miến, lúa mỳ, hướng dương, cà chua, cải bắp, bông, lúa, đậu tương, củ cải đường, mía, thuốc lá, lúa mạch, cây hạt cải dầu và ngô.

7. Hạt thu hoạch được từ thực vật theo điểm 6, trong đó hạt này bao gồm phân tử axit nucleic theo điểm 3.

8. Sản phẩm đã chế biến được tạo ra từ hạt thu hoạch được theo điểm 7, trong đó sản phẩm đã chế biến là bột mỳ, bột, dầu, tinh bột hoặc ngũ cốc và trong đó sản phẩm đã chế biến này bao gồm polypeptit theo điểm 1.

9. Hạt chuyển gen bao gồm phân tử axit nucleic tái tổ hợp theo điểm 3, trong đó hạt này được xử lý bằng chất diệt sinh vật gây hại.

10. Chế phẩm bao gồm polypeptit được thiết kế theo điểm 1 hoặc 2 trong chất mang nông dụng.

11. Phương pháp tạo ra polypeptit có hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu, bao gồm: biểu hiện phân tử axit nucleic tái tổ hợp theo điểm 3 trong tế bào chủ chuyển gen không phải của người theo điểm 5, nhờ đó tạo ra polypeptit có hoạt tính diệt sinh vật gây hại kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu.

12. Phương pháp tạo ra thực vật chuyển gen kháng sinh vật gây hại, bao gồm việc đưa vào thực vật phân tử axit nucleic tái tổ hợp theo điểm 3, trong đó trình tự nucleotit này được biểu hiện trong thực vật, nhờ đó giúp cho thực vật kháng ít nhất sâu đục thân ngô châu Âu, và tạo ra thực vật chuyển gen kháng sinh vật gây hại.

13. Phương pháp theo điểm 12, trong đó thực vật chuyển gen kháng ít nhất một sinh vật gây hại bổ sung được chọn từ nhóm bao gồm *Plutella xylostella* (sâu tơ), *Spodoptera frugiperda* (sâu xanh mùa thu), *Agrotis ipsilon* (sâu xám), *Helicoverpa zea* (sâu đục quả bông), *Heliothis virescens* (sâu đục chồi ở cây thuốc lá), *Spodoptera exigua* (sâu xanh da láng), *Helicoverpa punctigera* (sâu đục chồi tự nhiên), *Helicoverpa armigera* (sâu đục quả bông), *Manduca sexta* (sâu sừng thuốc lá), *Trichoplusia ni* (sâu đo trên cải bắp), *Pectinophora gossypiella* (sâu đục quả màu hồng), *Cochylis hospes* (sâu bướm hại hướng dương có viền lưng), và kết hợp bất kỳ của chúng.

14. Phương pháp kiểm soát ít nhất các côn trùng đục thân ngô châu Âu, bao gồm việc phân phối cho côn trùng lượng có hiệu quả của polypeptit theo điểm 1 hoặc 2.

15. Phương pháp tăng cường bảo vệ thực vật chuyển gen theo điểm 6 chống lại thiệt hại tàn phá bởi một hoặc nhiều sinh vật gây hại, phương pháp này bao gồm việc cung cấp hạt đối với thực vật chuyển gen, trong đó hạt này chứa phân tử axit nucleic theo điểm 3, và xử lý hạt này bằng lượng có hiệu quả chất diệt côn trùng hoặc lớp phủ hạt diệt côn trùng, kết hợp với polypeptit, có hiệu quả bảo vệ thực vật phát triển từ hạt chống lại thiệt hại tàn phá bởi ít nhất một hoặc nhiều sinh vật gây hại ở mức lớn hơn kỳ vọng chỉ nhờ chất diệt côn trùng hoặc chỉ nhờ polypeptit.

1/1

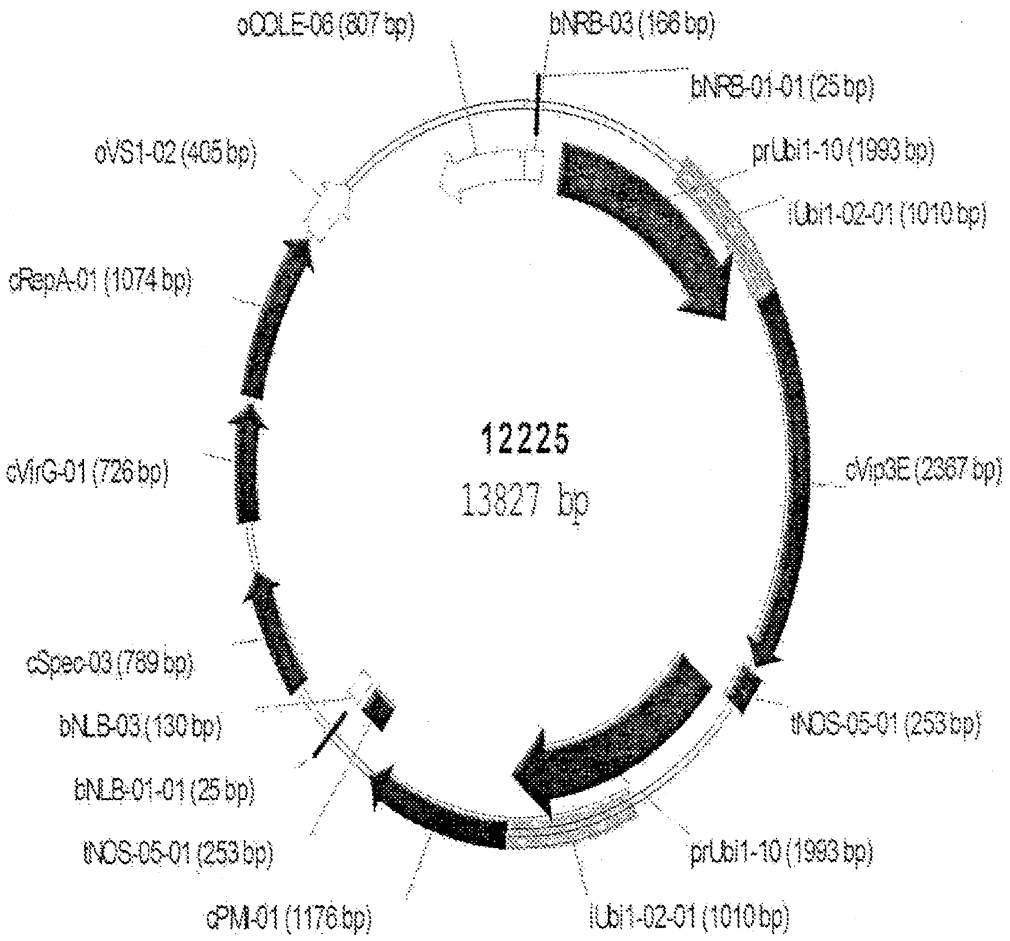

oOOLE-06 (807 bp)
bNRB-03 (166 bp)
bNRB-01-01 (25 bp)
oVS1-02 (405 bp)
prUbi1-10 (1993 bp)
lUbi1-02-01 (1010 bp)
cRepA-01 (1074 bp)
12225
13827 bp
cVirG-01 (726 bp)
cVip3E (2367 bp)
cSpec-03 (769 bp)
tNOS-05-01 (253 bp)
bNLB-03 (130 bp)
bNLB-01-01 (25 bp)
tNOS-05-01 (253 bp)
prUbi1-10 (1993 bp)
cPM-01 (1176 bp)
lUbi1-02-01 (1010 bp)

FIG. 1

DANH MỤC TRÌNH TỰ

<110> Syngenta Participations AG
Lee, Mikyong
Chen, Jeng Shong
Stacy, Cheryl M.
Conville, Jared
Palekar, Narendra V.

<120> POLYPEPTIT ĐƯỢC THIẾT KẾ CÓ HOẠT TÍNH DIỆT SINH VẬT GÂY HẠI, PHÂN TỬ AXIT NUCLEIC MÃ HÓA POLYPEPTIT NÀY, CÂY TRỒNG CHUYỂN GEN, CHẾ PHẨM CHỨA POLYPEPTIT NÀY VÀ PHƯƠNG PHÁP TẠO RA POLYPEPTIT ĐƯỢC THIẾT KẾ CÓ HOẠT TÍNH DIỆT SINH VẬT GÂY HẠI NÀY

<130> 72597WOREGORGP1

<160> 457

<170> PatentIn phiên bản 3.5

<210> 1
<211> 788
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 1

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val

```
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
```

405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp

660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 2
<211> 2367
<212> ADN
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 2
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 3
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>

<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 3

```
Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1               5                  10                  15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240
```

```
Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Ala Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495
```

```
Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
            740                 745                 750
```

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 4
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 4
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agagcgaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 5
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 5

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

```
Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320
```

```
Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Ala Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575
```

```
Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
            740                 745                 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
        755                 760                 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
    770                 775                 780

Val Ser Ile Lys
785
```

<210> 6
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 6

atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggcggggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 7
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 7

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

```
Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400
```

```
Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655
```

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Ala
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 8
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 8
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgcggaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 9
<211> 788

<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 9

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

```
Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480
```

```
Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ala
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735
```

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 10
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 10
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtccg cggaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 11
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 11

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

```
Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300
```

```
Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560
```

```
Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
            740                 745                 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Ala Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
        755                 760                 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
    770                 775                 780

Val Ser Ile Lys
785
```

<210> 12
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 12
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgcg 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 13
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 13

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

```
Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380
```

```
Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640
```

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ala Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 14
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 14
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt cttgcgttaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 15
<211> 789
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 15

Met Asn Lys Asn Asn Thr Lys Leu Ser Thr Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asp Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Asp Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu Arg Val Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Ser Ser Lys Val Lys Lys Asp Gly Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

```
Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Thr Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Ile Gly Phe Glu Ile Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Met Asp Lys Leu Leu
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480
```

```
Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Ile Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Glu Asp Tyr Gln Thr Ile Asn Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Asn Phe Ile Ile Leu Glu Ile Ser Pro Ser Glu Lys
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Thr Asn Asn Trp Thr Ser Thr Gly
        675                 680                 685

Ser Thr Asn Ile Ser Gly Asn Thr Leu Thr Leu Tyr Gln Gly Gly Arg
    690                 695                 700

Gly Ile Leu Lys Gln Asn Leu Gln Leu Asp Ser Phe Ser Thr Tyr Arg
705                 710                 715                 720

Val Tyr Phe Ser Val Ser Gly Asp Ala Asn Val Arg Ile Arg Asn Ser
                725                 730                 735
```

```
Arg Glu Val Leu Phe Glu Lys Arg Tyr Met Ser Gly Ala Lys Asp Val
            740                 745                 750

Ser Glu Met Phe Thr Thr Lys Phe Glu Lys Asp Asn Phe Tyr Ile Glu
        755                 760                 765

Leu Ser Gln Gly Asn Asn Leu Tyr Gly Gly Pro Ile Val His Phe Tyr
    770                 775                 780

Asp Val Ser Ile Lys
785
```

<210> 16
<211> 787
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 16

```
Met Asn Lys Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1               5                  10                  15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asn Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Asn Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Val Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160
```

```
Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Met
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Asp Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asn Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Phe Ile Met Asn Glu His Leu Asp Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Ala Lys Gly Ser Asn Glu Asp Ala Lys Ile Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly Tyr Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Ala Tyr Gln Ala Lys Leu Lys Gln Asp Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Ile Val Tyr Gly Asp Met Asp Lys Leu Leu
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Ala Phe
                405                 410                 415
```

```
Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Thr Phe Thr Lys Lys Met Asn
            420                 425                 430

Ser Leu Arg Tyr Glu Ala Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Asp Ile Asp Leu Asn Lys Thr Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Ser Thr Leu Ser Ala Ser Thr Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Ile
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Ile Val Val
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Lys Leu Val Asn Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Val Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ile Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Asn Leu
    530                 535                 540

Glu Gly Glu Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Glu Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Ser Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Ile Val Lys Gly Lys Ala Ser Ile Leu
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Lys Asn Gly Asp Cys Ile Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Gly Leu Glu Asp Phe Gln Thr Ile Thr Lys Ser Phe Ile Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Ser Ser Gly Val His Leu Ile Phe Asn Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Phe Gly Glu Asn Phe Thr Ile Ser Glu Ile Arg Leu Ser Glu Asp
            660                 665                 670
```

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Ser Asp Ala Trp Val Gly Ser Gln
675 680 685

Gly Thr Trp Ile Ser Gly Asn Ser Leu Thr Ile Asn Ser Asn Val Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Asn Leu Ser Leu Glu Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Met Asn Phe Asn Val Asn Gly Phe Ala Lys Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Lys Asn Tyr Pro Gln Leu Ser Pro Lys Asp
740 745 750

Ile Ser Glu Lys Phe Thr Thr Ala Ala Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Phe Thr Ser Gly Gly Ala Ile Asn Phe Arg Asn Phe
770 775 780

Ser Ile Lys
785

<210> 17
<211> 788
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<220>
<221> DẤU HIỆU MISC
<222> (738)..(738)
<223> X=G hoặc E

<400> 17

Met Asn Lys Asn Asn Thr Lys Leu Ser Thr Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

```
Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Gly Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335
```

```
Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590
```

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Xaa Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 18
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 18

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe

```
1               5                  10                  15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
```

260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Ala Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile

```
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
            740                 745                 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
        755                 760                 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
```

770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 19
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 19
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atgcgacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 20
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 20

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln

85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys

340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ala Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His

595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 21
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 21
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccagcgggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 22
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 22

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

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

```
                 165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
```

```
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Ala Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
```

675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 23
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 23
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagcg 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 24
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 24

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile

```
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
```

500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Ala Tyr Val

755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 25
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 25
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggagcgta tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 26
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 26

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn

65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala

325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Ala Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys

580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 27
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 27

atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gcggatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 28
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 28

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val

```
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
```

405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Ala Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp

660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 29
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 29
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tcgcggctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 30
<211> 788
<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 30

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly

225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala

485 490 495

Asp Glu Asn Ser Ala Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His

740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 31
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 31
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

gcgttaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 32
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 32

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys

```
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
```

305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ala Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His

565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 33
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 33
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacggggcga tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 34
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 34

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys

```
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
```

385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Ala Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu

645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 35
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 35
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa gcgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 36
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 36

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

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

```
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
```

465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Ala Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser

725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 37
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 37
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaatttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aagcgtctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 38
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 38

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu

```
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
```

290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr

545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile Ala
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 39

<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 39
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tgcgttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 40
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 40

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val

```
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
```

370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Ala Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr

625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 41
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 41
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggagcgat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 42
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 42

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu

195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr

```
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ala His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
```

705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 43
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 43
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatgc gcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 44
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 44

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp

```
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
```

```
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
```

530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile Ala Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys

785

<210> 45
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 45
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tgcgtatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 46
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 46

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr

```
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
```

355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn

610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Ala Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 47
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 47
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaatttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aagcgtttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 48
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 48

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr

```
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
```

435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Ala Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn

690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 49
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 49
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttagcgg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 50
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 50

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe

```
1               5                   10                  15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
```

260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile

```
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Ala Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
            740                 745                 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
        755                 760                 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
```

770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 51
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 51
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc tgcgggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 52
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 52

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln

85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys

340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His

595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Ala Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 53
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 53
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

gcgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 54
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 54

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

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

```
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
```

```
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
```

675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ala Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 55
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 55
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaatttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatgcgt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 56
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 56

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile

245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg

```
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
            740                 745                 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
```

755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ala Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 57
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 57
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgcg cgggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 58
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 58

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn

65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala

325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys

580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Ala Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 59
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 59

atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctgcgggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 60
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 60

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val

```
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
```

405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp

660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly Ala Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 61
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 61
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtgcgata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 62
<211> 788
<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 62

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly

225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala

485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Ala Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His

740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 63
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 63
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaag cgctgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 64
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 64

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys

```
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
```

305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Ala Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His

565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 65
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 65
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagcgga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 66
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 66

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys

```
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
```

385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Ala Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu

645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 67
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 67
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaatg cgggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 68
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 68

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

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

210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val

465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Ala Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser

725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 69
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 69
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagctttg cggcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 70
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 70

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu

35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr

290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr

545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Ala Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 71

<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 71
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaagcga gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 72
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 72

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val

```
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
```

370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr

625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ala Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 73
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 73
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgag cgaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 74
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 74

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu

195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr

```
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
```

705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Ala Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 75
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 75
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctggggcgtt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 76
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 76

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp

```
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
```

275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile

530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ala Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys

785

<210> 77
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 77
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

gcgaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 78
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 78

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr

```
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
```

```
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
```

610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Ala Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 79
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 79
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataatg cgggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 80
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 80

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr

```
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
```

435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn

690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Ala His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 81
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 81
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tgcgcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 82
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 82

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe

```
1               5                   10                  15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
```

260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile

515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn

770 775 780

Ala Ser Ile Lys
785

<210> 83
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 83
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgcgtctat taaataa 2367

<210> 84
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 84

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln

85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys

340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Ala Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His

595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 85
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 85
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaagcgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 86
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 86

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

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

165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys

420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Ala Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro

675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 87
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 87
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcg cgcaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 88
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 88

```
Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1               5                  10                  15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
```

245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ala Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg

500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val

755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 89
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 89
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattagcga ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 90
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 90

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn

65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala

325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys

580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Ala Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 91
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 91

atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatgcg 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 92
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 92

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val

```
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
```

405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Ala Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp

660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 93
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 93
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata atgcgttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 94
<211> 788
<212> PRT

<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 94

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly

225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala

485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Ala Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His

740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 95
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 95
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agatgcgcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 96
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 96

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys

```
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
```

305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His

565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Ala Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 97
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 97
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttagcg agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 98
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 98

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys

```
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
```

385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu

645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Ala Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 99
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 99
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccggcgtctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 100
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 100

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

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

```
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
```

465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ala Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser

725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 101
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 101
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaatgcgt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 102
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 102

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu

```
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
```

290 295 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305 310 315 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
325 330 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
340 345 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr

545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Ala Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 103

<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 103
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

gcggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 104
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 104

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val

```
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
```

370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr

625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Ala Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 105
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 105
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttgc gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 106
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 106

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu

```
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
```

```
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
```

705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Ala Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 107
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 107
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtgcgt ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 108
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 108

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp

```
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
```

```
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Ala Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
```

530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys

785

<210> 109
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 109
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagcgtatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 110
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 110

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr

```
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
```

355 360 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
370 375 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385 390 395 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
405 410 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
420 425 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn

610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Ala Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 111
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 111
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccagcggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 112
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 112

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr

```
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

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

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
```

435 440 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
450 455 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465 470 475 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
485 490 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
500 505 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
515 520 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
530 535 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545 550 555 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
565 570 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
580 585 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
595 600 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
610 615 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn

690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 113
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 113
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattagcg 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 114
<211> 11
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 114

Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp Ile
1 5 10

<210> 115
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 115

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

```
Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480
```

```
Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ala
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ala Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735
```

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 116
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến
<400> 116
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtccg cggaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt cttgcgttaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 117
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 117

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

```
Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300
```

```
Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Ala Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Ala Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560
```

```
Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
            740                 745                 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
        755                 760                 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
    770                 775                 780

Val Ser Ile Lys
785
```

<210> 118
<211> 2367
<212> ADN

<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 118
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agcgaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata aggcgaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 119
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 119

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

```
Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380
```

```
Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile Ala Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640
```

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Ala Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 120
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 120
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tgcgtatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcagcg agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 121
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 121

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

```
Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460
```

```
Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Ala Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720
```

Ala Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 122
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 122
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaatttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa cattttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

gcggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

gcgagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 123
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 123

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
210 215 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225 230 235 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
245 250 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
260 265 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
275 280 285

```
Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540
```

```
Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ala Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
            740                 745                 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
        755                 760                 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ala Phe Glu Asn
    770                 775                 780

Val Ser Ile Lys
785
```

<210> 124
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 124
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

atagcgttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

gcgtttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 125
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 125

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

```
Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365
```

```
Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620
```

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625 630 635 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
645 650 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
660 665 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
675 680 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
690 695 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ala Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ala Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ser Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 126
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 126
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaatttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgag cgaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

gcgaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

tcatttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 127
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 127

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
20 25 30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
35 40 45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
50 55 60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65 70 75 80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
85 90 95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
100 105 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
115 120 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
130 135 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145 150 155 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
165 170 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
180 185 190

```
Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270

Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445
```

```
Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525

Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700
```

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705 710 715 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
725 730 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ala Asn Leu Met Ser Ser Thr Ser His
740 745 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
755 760 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ala Phe Glu Asn
770 775 780

Val Ser Ile Lys
785

<210> 128
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 128
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgag cgaaccttat gtcttcaact agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

gcgtttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 129
<211> 788
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> trình tự polypeptit Vip3D đột biến

<400> 129

Met Asn Met Asn Asn Thr Lys Leu Asn Ala Arg Ala Leu Pro Ser Phe
1 5 10 15

```
Ile Asp Tyr Phe Asn Gly Ile Tyr Gly Phe Ala Thr Gly Ile Lys Asp
            20                  25                  30

Ile Met Asn Met Ile Phe Lys Thr Asp Thr Gly Gly Asn Leu Thr Leu
        35                  40                  45

Asp Glu Ile Leu Lys Asn Gln Gln Leu Leu Asn Glu Ile Ser Gly Lys
    50                  55                  60

Leu Asp Gly Val Asn Gly Ser Leu Asn Asp Leu Ile Ala Gln Gly Asn
65                  70                  75                  80

Leu Asn Thr Glu Leu Ser Lys Glu Ile Leu Lys Ile Ala Asn Glu Gln
                85                  90                  95

Asn Gln Val Leu Asn Asp Val Asn Asn Lys Leu Asp Ala Ile Asn Thr
            100                 105                 110

Met Leu His Ile Tyr Leu Pro Lys Ile Thr Ser Met Leu Ser Asp Val
        115                 120                 125

Met Lys Gln Asn Tyr Ala Leu Ser Leu Gln Ile Glu Tyr Leu Ser Lys
    130                 135                 140

Gln Leu Gln Glu Ile Ser Asp Lys Leu Asp Ile Ile Asn Val Asn Val
145                 150                 155                 160

Leu Ile Asn Ser Thr Leu Thr Glu Ile Thr Pro Ala Tyr Gln Arg Ile
                165                 170                 175

Lys Tyr Val Asn Glu Lys Phe Glu Glu Leu Thr Phe Ala Thr Glu Thr
            180                 185                 190

Thr Leu Lys Val Lys Lys Asp Ser Ser Pro Ala Asp Ile Leu Asp Glu
        195                 200                 205

Leu Thr Glu Leu Thr Glu Leu Ala Lys Ser Val Thr Lys Asn Asp Val
    210                 215                 220

Asp Gly Phe Glu Phe Tyr Leu Asn Thr Phe His Asp Val Met Val Gly
225                 230                 235                 240

Asn Asn Leu Phe Gly Arg Ser Ala Leu Lys Thr Ala Ser Glu Leu Ile
                245                 250                 255

Ala Lys Glu Asn Val Lys Thr Ser Gly Ser Glu Val Gly Asn Val Tyr
            260                 265                 270
```

```
Asn Phe Leu Ile Val Leu Thr Ala Leu Gln Ala Lys Ala Phe Leu Thr
        275                 280                 285

Leu Thr Thr Cys Arg Lys Leu Leu Gly Leu Ala Asp Ile Asp Tyr Thr
    290                 295                 300

Ser Ile Met Asn Glu His Leu Asn Lys Glu Lys Glu Glu Phe Arg Val
305                 310                 315                 320

Asn Ile Leu Pro Thr Leu Ser Asn Thr Phe Ser Asn Pro Asn Tyr Ala
                325                 330                 335

Lys Val Lys Gly Ser Asp Glu Asp Ala Lys Met Ile Val Glu Ala Lys
            340                 345                 350

Pro Gly His Ala Leu Val Gly Phe Glu Met Ser Asn Asp Ser Ile Thr
        355                 360                 365

Val Leu Lys Val Tyr Glu Ala Lys Leu Lys Gln Asn Tyr Gln Val Asp
    370                 375                 380

Lys Asp Ser Leu Ser Glu Val Ile Tyr Gly Asp Thr Asp Lys Leu Phe
385                 390                 395                 400

Cys Pro Asp Gln Ser Glu Gln Ile Tyr Tyr Thr Asn Asn Ile Val Phe
                405                 410                 415

Pro Asn Glu Tyr Val Ile Thr Lys Ile Asp Phe Thr Lys Lys Met Lys
            420                 425                 430

Thr Leu Arg Tyr Glu Val Thr Ala Asn Phe Tyr Asp Ser Ser Thr Gly
        435                 440                 445

Glu Ile Asp Leu Asn Lys Lys Lys Val Glu Ser Ser Glu Ala Glu Tyr
    450                 455                 460

Arg Thr Leu Ser Ala Asn Asp Asp Gly Val Tyr Met Pro Leu Gly Val
465                 470                 475                 480

Ile Ser Glu Thr Phe Leu Thr Pro Ile Asn Gly Phe Gly Leu Gln Ala
                485                 490                 495

Asp Glu Asn Ser Arg Leu Ile Thr Leu Thr Cys Lys Ser Tyr Leu Arg
            500                 505                 510

Glu Leu Leu Leu Ala Thr Asp Leu Ser Asn Lys Glu Thr Lys Leu Ile
        515                 520                 525
```

```
Val Pro Pro Ser Gly Phe Ile Ser Asn Ile Val Glu Asn Gly Ser Ile
    530                 535                 540

Glu Glu Asp Asn Leu Glu Pro Trp Lys Ala Asn Asn Lys Asn Ala Tyr
545                 550                 555                 560

Val Asp His Thr Gly Gly Val Asn Gly Thr Lys Ala Leu Tyr Val His
                565                 570                 575

Lys Asp Gly Gly Phe Ser Gln Phe Ile Gly Asp Lys Leu Lys Pro Lys
            580                 585                 590

Thr Glu Tyr Val Ile Gln Tyr Thr Val Lys Gly Lys Pro Ser Ile His
        595                 600                 605

Leu Lys Asp Glu Asn Thr Gly Tyr Ile His Tyr Glu Asp Thr Asn Asn
    610                 615                 620

Asn Leu Lys Asp Tyr Gln Thr Ile Thr Lys Arg Phe Thr Thr Gly Thr
625                 630                 635                 640

Asp Leu Lys Gly Val Tyr Leu Ile Leu Lys Ser Gln Asn Gly Asp Glu
                645                 650                 655

Ala Trp Gly Asp Lys Phe Thr Ile Leu Glu Ile Lys Pro Ala Glu Asp
            660                 665                 670

Leu Leu Ser Pro Glu Leu Ile Asn Pro Asn Ser Trp Ile Thr Thr Pro
        675                 680                 685

Gly Ala Ser Ile Ser Gly Asn Lys Leu Phe Ile Asn Leu Gly Thr Asn
    690                 695                 700

Gly Thr Phe Arg Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Tyr Ser Thr Tyr Ser
705                 710                 715                 720

Ile Ser Phe Thr Ala Ser Gly Pro Phe Asn Val Thr Val Arg Asn Ser
                725                 730                 735

Arg Glu Val Leu Phe Glu Arg Ser Asn Leu Met Ser Ser Ala Ser His
            740                 745                 750

Ile Ser Gly Thr Phe Lys Thr Glu Ser Asn Asn Thr Gly Leu Tyr Val
        755                 760                 765

Glu Leu Ser Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly His Ile Ala Phe Glu Asn
    770                 775                 780
```

Val Ser Ile Lys
785

<210> 130
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa polypeptit Vip3D đột biến

<400> 130
atgaatatga ataatactaa attaaacgca agggccctac cgagttttat tgattatttt 60

aatggcattt atggatttgc cactggtatc aaagacatta tgaatatgat ttttaaaacg 120

gatacaggtg gtaatctaac cttagacgaa atcctaaaga atcagcagtt actaaatgag 180

atttctggta aattggatgg ggtaaatggg agcttaaatg atcttatcgc acagggaaac 240

ttaaatacag aattatctaa ggaaatctta aaaattgcaa atgaacagaa tcaagtctta 300

aatgatgtta ataacaaact cgatgcgata aatacgatgc ttcatatata tctacctaaa 360

attacatcta tgttaagtga tgtaatgaag caaaattatg cgctaagtct gcaaatagaa 420

tacttaagta agcaattgca agaaatttct gataaattag atattattaa cgtaaatgtt 480

cttattaact ctacacttac tgaaattaca cctgcatatc aacggattaa atatgtgaat 540

gaaaaatttg aagaattaac ttttgctaca gaaaccactt taaaagtaaa aaaggatagc 600

tcgcctgctg atattcttga tgagttaact gaattaactg aactagcgaa aagtgttaca 660

aaaaatgacg ttgatggttt tgaattttac cttaatacat tccacgatgt aatggtagga 720

aataatttat tcgggcgttc agctttaaaa actgcttcag aattaattgc taaagaaaat 780

gtgaaaacaa gtggcagtga agtaggaaat gtttataatt tcttaattgt attaacagct 840

ctacaagcaa aagcttttct tactttaaca acatgccgaa aattattagg cttagcagat 900

attgattata cttctattat gaatgaacat ttaaataagg aaaaagagga atttagagta 960

aacatccttc ctacactttc taatactttt tctaatccta attatgcaaa agttaaagga 1020

agtgatgaag atgcaaagat gattgtggaa gctaaaccag gacatgcatt ggttgggttt 1080

gaaatgagca atgattcaat cacagtatta aaagtatatg aggctaagct aaaacaaaat 1140

tatcaagttg ataaggattc cttatcggag gttatttatg gtgatacgga taaattattt 1200

tgtccagatc aatctgaaca aatatattat acaaataaca tagtattccc aaatgaatat 1260

gtaattacta aaattgattt cactaaaaaa atgaaaactt taagatatga ggtaacagcg 1320

aatttttatg attcttctac aggagaaatt gacttaaata agaaaaaagt agaatcaagt 1380

gaagcggagt atagaacgtt aagtgctaat gatgatggag tgtatatgcc attaggtgtc 1440

atcagtgaaa catttttgac tccgataaat gggtttggcc tccaagctga tgaaaattca 1500

agattaatta ctttaacatg taaatcatat ttaagagaac tactgctagc aacagactta 1560

agcaataaag aaactaaatt gatcgtccca ccaagtggtt ttattagcaa tattgtagag 1620

aacgggtcca tagaagagga caatttagag ccgtggaaag caaataataa gaatgcgtat 1680

gtagatcata caggcggagt gaatggaact aaagctttat atgttcataa ggacggagga 1740

ttttcacaat ttattggaga taagttaaaa ccgaaaactg agtatgtaat ccaatatact 1800

gttaaaggaa aaccttctat tcatttaaaa gatgaaaata ctggatatat tcattatgaa 1860

gatacaaata ataatttaaa agattatcaa actattacta aacgttttac tacaggaact 1920

gatttaaagg gagtgtattt aattttaaaa agtcaaaatg gagatgaagc ttggggagat 1980

aaatttacaa ttttagaaat taagcctgcg gaggatttat taagcccaga attaattaat 2040

ccgaattctt ggattacgac tccaggggct agcatttcag gaaataaact tttcattaac 2100

ttggggacaa atgggacctt tagacaaagt ctttcattaa acagttattc aacttatagt 2160

ataagcttta ctgcatcagg accatttaat gtgacggtaa gaaattctag ggaagtatta 2220

tttgaacgaa gcaaccttat gtcttcagcg agtcatattt ctgggacatt caaaactgaa 2280

tccaataata ccggattata tgtagaactt tcccgtcgct ctggtggtgg tggtcatata 2340

gcgtttgaaa acgtttctat taaataa 2367

<210> 131
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 131
tacaatttta gaaattgcgc ctgcggagga ttt 33

<210> 132
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 132
aaatcctccg caggcgcaat ttctaaaatt gta 33

<210> 133
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 133

ccagaattaa ttaatgcgaa ttcttggatt acg 33

<210> 134
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 134
cgtaatccaa gaattcgcat taattaattc tgg 33

<210> 135
<211> 28
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 135
taattaatcc gaatgcgtgg attacgac 28

<210> 136
<211> 28
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 136
gtcgtaatcc acgcattcgg attaatta 28

<210> 137
<211> 27
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 137
gaattcttgg attgcgactc caggggc 27

<210> 138
<211> 27
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 138
gcccctggag tcgcaatcca agaattc 27

<210> 139

<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 139
cttggattac gactgcgggg gctagcattt c 31

<210> 140
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 140
gaaatgctag cccccgcagt cgtaatccaa g 31

<210> 141
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 141
gactccaggg gctgcgattt caggaaataa ac 32

<210> 142
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 142
gtttatttcc tgaaatcgca gcccctggag tc 32

<210> 143
<211> 29
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 143
gcatttcagg aaatgcgctt ttcattaac 29

<210> 144
<211> 29
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 144
gttaatgaaa agcgcatttc ctgaaatgc 29

<210> 145
<211> 39
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 145
ggaaataaac ttttcattaa cgcggggaca aatgggacc 39

<210> 146
<211> 39
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 146
ggtcccattt gtccccgcgt taatgaaaag tttatttcc 39

<210> 147
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 147
cttttcatta acttgggggc gaatgggacc tttag 35

<210> 148
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 148
ctaaaggtcc cattcgcccc caagttaatg aaaag 35

<210> 149
<211> 46
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 149

ggacctttag acaaagtctt tcattagcga gttattcaac ttatag 46

<210> 150
<211> 46
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 150
ctataagttg aataactcgc taatgaaaga ctttgtctaa aggtcc 46

<210> 151
<211> 28
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 151
caacttatag tgcgagcttt actgcatc 28

<210> 152
<211> 28
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 152
gatgcagtaa agctcgcact ataagttg 28

<210> 153
<211> 40
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 153
gttattcaac ttatagtata gcgtttactg catcaggacc 40

<210> 154
<211> 40
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 154
ggtcctgatg cagtaaacgc tatactataa gttgaataac 40

<210> 155

<211> 41
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 155
cttatagtat aagctttgcg gcatcaggac catttaatgt g 41

<210> 156
<211> 41
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 156
cacattaaat ggtcctgatg ccgcaaagct tatactataa g 41

<210> 157
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 157
gctttactgc atcaggagcg tttaatgtga cggtaag 37

<210> 158
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 158
cttaccgtca cattaaacgc tcctgatgca gtaaagc 37

<210> 159
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 159
gtattatttg aacgagcgaa ccttatgtct tc 32

<210> 160
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 160
gaagacataa ggttcgctcg ttcaaataat ac 32

<210> 161
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 161
gaacgaagca acgcgatgtc ttcaactagt c 31

<210> 162
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 162
gactagttga agacatcgcg ttgcttcgtt c 31

<210> 163
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 163
gaacgaagca accttgcgtc ttcaactagt catatttc 38

<210> 164
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 164
gaaatatgac tagttgaaga cgcaaggttg cttcgttc 38

<210> 165
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 165

gaacgaagca accttatggc gtcaactagt catatttc 38

<210> 166
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 166
gaaatatgac tagttgacgc cataaggttg cttcgttc 38

<210> 167
<211> 29
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 167
ccttatgtct tcagcgagtc atatttctg 29

<210> 168
<211> 29
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 168
cagaaatatg actcgctgaa gacataagg 29

<210> 169
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 169
ctagtcatat ttctggggcg ttcaaaactg aatcc 35

<210> 170
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 170
ggattcagtt ttgaacgccc cagaaatatg actag 35

<210> 171

<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 171
ggacattcaa aactgcgtcc aataataccg g 31

<210> 172
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 172
ccggtattat tggacgcagt tttgaatgtc c 31

<210> 173
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 173
cattcaaaac tgaagcgaat aataccggat tatatg 36

<210> 174
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 174
catataatcc ggtattattc gcttcagttt tgaatg 36

<210> 175
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 175
gtagaacttt cccgtgcgtc tggtggtggt gg 32

<210> 176
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 176
ccaccaccac cagacgcacg ggaaagttct ac 32

<210> 177
<211> 28
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 177
ctttcccgtc gcgcgggtgg tggtggtc 28

<210> 178
<211> 28
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 178
gaccaccacc acccgcgcga cgggaaag 28

<210> 179
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 179
gaactttccc gtcgctctgc gggtggtggt catatatc 38

<210> 180
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 180
gatatatgac caccacccgc agagcgacgg gaaagttc 38

<210> 181
<211> 30
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 181

ggtggtggtg gtgcgatatc atttgaaaac 30

<210> 182
<211> 30
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 182
gttttcaaat gatatcgcac caccaccacc 30

<210> 183
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 183
ggtggtggtc atatagcgtt tgaaaacgtt tc 32

<210> 184
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 184
gaaacgtttt caaacgctat atgaccacca cc 32

<210> 185
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 185
ggtcatatat catttgcgaa cgtttctatt aaa 33

<210> 186
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 186
tttaatagaa acgttcgcaa atgatatatg acc 33

<210> 187

<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 187
ctgcttcaga attaattgcg aaagaaaatg tg 32

<210> 188
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 188
cacattttct ttcgcaatta attctgaagc ag 32

<210> 189
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 189
cattggttgg gtttgaagcg agcaatgatt caatcac 37

<210> 190
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 190
gtgattgaat cattgctcgc ttcaaaccca accaatg 37

<210> 191
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 191
gattatcaaa ctattgcgaa acgttttact acagg 35

<210> 192
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 192
cctgtagtaa aacgtttcgc aatagtttga taatc 35

<210> 193
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 193
cttggggaga taaatttgcg attttagaaa ttaagcc 37

<210> 194
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 194
ggcttaattt ctaaaatcgc aaatttatct ccccaag 37

<210> 195
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 195
ggaaataaac ttttcattgc gttggggaca aatgggac 38

<210> 196
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 196
gtcccatttg tccccaacgc aatgaaaagt ttatttcc 38

<210> 197
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 197

cttggggaca aatggggcgt ttagacaaag tctttc 36

<210> 198
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 198
gaaagacttt gtctaaacgc cccatttgtc cccaag 36

<210> 199
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 199
cctttagaca aagtcttgcg ttaaacagtt attcaac 37

<210> 200
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 200
gttgaataac tgtttaacgc aagactttgt ctaaagg 37

<210> 201
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 201
gtctttcatt aaacagtgcg tcaacttata gtataagc 38

<210> 202
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 202
gcttatacta taagttgacg cactgtttaa tgaaagac 38

<210> 203

<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 203
cagttattca acttatgcga taagctttac tgcatc 36

<210> 204
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 204
gatgcagtaa agcttatcgc ataagttgaa taactg 36

<210> 205
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 205
ggaccattta atgtggcggt aagaaattct agg 33

<210> 206
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 206
cctagaattt cttaccgcca cattaaatgg tcc 33

<210> 207
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 207
gaagcaacct atgtctgcg actagtcata tttctgg 37

<210> 208
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 208
ccagaaatat gactagtcgc agacataagg ttgcttc 37

<210> 209
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 209
caaaactgaa tccaataatg cgggattata tgtagaac 38

<210> 210
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 210
gttctacata taatcccgca ttattggatt cagttttg 38

<210> 211
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 211
ctgaatccaa taataccgcg ttatatgtag aactttc 37

<210> 212
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 212
gaaagttcta catataacgc ggtattattg gattcag 37

<210> 213
<211> 42
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 213

ctttaaaagt aaaaaaggat gcgtcgcctg ctgatattct tg 42

<210> 214
<211> 42
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 214
caagaatatc agcaggcgac gcatcctttt ttacttttaa ag 42

<210> 215
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 215
cagctctaca agcagcggct tttcttactt taac 34

<210> 216
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 216
gttaaagtaa gaaaagccgc tgcttgtaga gctg 34

<210> 217
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 217
ccaggacatg cattggcggg gtttgaaatg agc 33

<210> 218
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 218
gctcatttca aaccccgcca atgcatgtcc tgg 33

<210> 219

<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 219
cataaggacg gaggagcgtc acaatttatt ggag 34

<210> 220
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 220
ctccaataaa ttgtgacgct cctccgtcct tatg 34

<210> 221
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 221
gaaattaagc ctgcggaggc gttattaagc ccag 34

<210> 222
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 222
ctgggcttaa taacgcctcc gcaggcttaa tttc 34

<210> 223
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 223
ggattacgac tccagcggct agcatttcag g 31

<210> 224
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 224
cctgaaatgc tagccgctgg agtcgtaatc c 31

<210> 225
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 225
caggaaataa acttgcgatt aacttgggga caaatggg 38

<210> 226
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 226
cccatttgtc cccaagttaa tcgcaagttt atttcctg 38

<210> 227
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 227
cattaacttg gggacagcgg ggacctttag acaaag 36

<210> 228
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 228
ctttgtctaa aggtccccgc tgtccccaag ttaatg 36

<210> 229
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 229

gggacaaatg ggaccgcgag acaaagtctt tc 32

<210> 230
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 230
gaaagacttt gtctcgcggt cccatttgtc cc 32

<210> 231
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 231
gacaaatggg acctttgcgc aaagtctttc attaaac 37

<210> 232
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 232
gtttaatgaa agactttgcg caaaggtccc atttgtc 37

<210> 233
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 233
ggaccattta atgtgacggc gagaaattct agggaag 37

<210> 234
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 234
cttccctaga atttctcgcc gtcacattaa atggtcc 37

<210> 235

<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 235
gtcttcaact agtcatgcgt ctgggacatt caaaactg 38

<210> 236
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 236
cagttttgaa tgtcccagac gcatgactag ttgaagac 38

<210> 237
<211> 41
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 237
gacattcaaa actgaatccg cgaataccgg attatatgta g 41

<210> 238
<211> 41
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 238
ctacatataa tccggtattc gcggattcag ttttgaatgt c 41

<210> 239
<211> 42
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 239
cattcaaaac tgaatccaat gcgaccggat tatatgtaga ac 42

<210> 240
<211> 42
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 240
gttctacata taatccggtc gcattggatt cagttttgaa tg 42

<210> 241
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 241
gaatccaata ataccggagc gtatgtagaa ctttcccg 38

<210> 242
<211> 38
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 242
cgggaaagtt ctacatacgc tccggtatta ttggattc 38

<210> 243
<211> 41
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 243
caataatacc ggattatatg cggaactttc ccgtcgctct g 41

<210> 244
<211> 41
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 244
cagagcgacg ggaaagttcc gcatataatc cggtattatt g 41

<210> 245
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 245

gtagaacttt ccgcgcgctc tggtggtggt g 31

<210> 246
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 246
caccaccacc agagcgcgcg gaaagttcta c 31

<210> 247
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 247
cgctctggtg gtggtgcgca tatatcattt g 31

<210> 248
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 248
caaatgatat atgcgcacca ccaccagagc g 31

<210> 249
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 249
ggtggtggtg gtcatgcgtc atttgaaaac gtttc 35

<210> 250
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 250
gaaacgtttt caaatgacgc atgaccacca ccacc 35

<210> 251

<211> 40
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 251
gtcatatatc atttgaagcg gtttctatta ataaaaaggg 40

<210> 252
<211> 40
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 252
ccctttttatt taatagaaac cgcttcaaat gatatatgac 40

<210> 253
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 253
catatatcat ttgaaaacgc ttctattaaa taaaag 36

<210> 254
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 254
cttttattta atagaagcgt tttcaaatga tatatg 36

<210> 255
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 255
tcccgtcgct ctggtgctgg tggtcatata tca 33

<210> 256
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 256
tgatatatga ccaccagcac cagagcgacg gga 33

<210> 257
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 257
atttctggga cattcgcaac tgaatccaat aat 33

<210> 258
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 258
attattggat tcagttgcga atgtcccaga aat 33

<210> 259
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 259
cttatgtctt caactgctca tatttctggg ac 32

<210> 260
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 260
gtcccagaaa tatgagcagt tgaagacata ag 32

<210> 261
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 261

ttatttgaac gaagcgccct tatgtcttca ac 32

<210> 262
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 262
gttgaagaca taagggcgct tcgttcaaat aa 32

<210> 263
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 263
gaagtattat ttgaagcaag caaccttatg tc 32

<210> 264
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 264
gacataaggt tgcttgcttc aaataatact tc 32

<210> 265
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 265
ctgcatcagg accagctaat gtgacggtaa g 31

<210> 266
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 266
cttaccgtca cattagctgg tcctgatgca g 31

<210> 267

<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 267
gtataagctt tactgcagca ggaccattta atg 33

<210> 268
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 268
cattaaatgg tcctgctgca gtaaagctta tac 33

<210> 269
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 269
cttttcatta acttggcgac aaatgggacc ttt 33

<210> 270
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 270
aaaggtccca tttgtcgcca agttaatgaa aag 33

<210> 271
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 271
caggaaataa acttgccatt aacttgggga c 31

<210> 272
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 272
gtccccaagt taatggcaag tttatttcct g 31

<210> 273
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 273
gataaattta caattgcaga aattaagcct gc 32

<210> 274
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 274
gcaggcttaa tttctgcaat tgtaaattta tc 32

<210> 275
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 275
gaagcttggg gagatgcatt tacaatttta g 31

<210> 276
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 276
ctaaaattgt aaatgcatct ccccaagctt c 31

<210> 277
<211> 28
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 277

gaagcttggg gagctaaatt tacaattt 28

<210> 278
<211> 28
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 278
aaattgtaaa tttagctccc caagcttc 28

<210> 279
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 279
caaaatggag atgaagctgc gggagataaa tttacaa 37

<210> 280
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 280
ttgtaaattt atctcccgca gcttcatctc cattttg 37

<210> 281
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 281
gggagtgtat ttaattgcaa aaagtcaaaa tgg 33

<210> 282
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 282
ccattttgac tttttgcaat taaatacact ccc 33

<210> 283

<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 283
ctacaggaac tgatttagcg ggagtgtatt taattt 36

<210> 284
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 284
aaattaaata cactcccgct aaatcagttc ctgtag 36

<210> 285
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 285
ttactacagg aactgatgca aagggagtgt attt 34

<210> 286
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến'

<400> 286
aaatacactc cctttgcatc agttcctgta gtaa 34

<210> 287
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 287
ctattactaa acgttttgct acaggaactg attta 35

<210> 288
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 288
taaatcagtt cctgtagcaa aacgtttagt aatag 35

<210> 289
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 289
taataattta aaagatgctc aaactattac taaacg 36

<210> 290
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 290
cgtttagtaa tagtttgagc atcttttaaa ttatta 36

<210> 291
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 291
gaagatacaa ataatgcttt aaaagattat ca 32

<210> 292
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 292
tgataatctt ttaaagcatt atttgtatct tc 32

<210> 293
<211> 30
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 293

atactggata tattgcttat gaagatacaa 30

<210> 294
<211> 30
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 294
ttgtatcttc ataagcaata tatccagtat 30

<210> 295
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 295
gaaaatactg gatatgctca ttatgaagat ac 32

<210> 296
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 296
gtatcttcat aatgagcata tccagtattt tc 32

<210> 297
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 297
catttaaaag atgaaaatgc tggatatatt cattatg 37

<210> 298
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 298
cataatgaat atatccagca ttttcatctt ttaaatg 37

<210> 299

<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 299
ggaaaacctt ctattgcttt aaaagatgaa aatac 35

<210> 300
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 300
gtattttcat cttttaaagc aatagaaggt tttcc 35

<210> 301
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 301
gtatgtaatc caatatgctg ttaaaggaaa acc 33

<210> 302
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 302
ggttttcctt taacagcata ttggattaca tac 33

<210> 303
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 303
ggagataagt taaaagcgaa aactgagtat g 31

<210> 304
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 304
catactcagt tttcgctttt aacttatctc c 31

<210> 305
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 305
cgggtccata gaagaggcca atttagagcc gtgg 34

<210> 306
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 306
ccacggctct aaattggcct cttctatgga cccg 34

<210> 307
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 307
tgtagagaac gggtccgcag aagaggacaa tttag 35

<210> 308
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 308
ctaaattgtc ctcttctgcg gacccgttct ctaca 35

<210> 309
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 309

tattgtagag aacggggcca tagaagagga caa 33

<210> 310
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 310
ttgtcctctt ctatggcccc gttctctaca ata 33

<210> 311
<211> 42
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 311
ctaaattgat cgtcccacca gctggtttta ttagcaatat tg 42

<210> 312
<211> 42
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 312
caatattgct aataaaacca gctggtggga cgatcaattt ag 42

<210> 313
<211> 30
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 313
catatttaag agaagcactg ctagcaacag 30

<210> 314
<211> 30
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 314
ctgttgctag cagtgcttct cttaaatatg 30

<210> 315

<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 315
gaaaattcaa gattaattgc tttaacatgt aaatcat 37

<210> 316
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 316
atgatttaca tgttaaagca attaatcttg aattttc 37

<210> 317
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 317
gaaaattcaa gattagctac tttaacatgt aaatc 35

<210> 318
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 318
gatttacatg ttaaagtagc taatcttgaa ttttc 35

<210> 319
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 319
gctgatgaaa attcagcatt aattacttta ac 32

<210> 320
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 320
gttaaagtaa ttaatgctga attttcatca gc 32

<210> 321
<211> 39
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 321
gataaatggg tttggcctcg cagctgatga aaattcaag 39

<210> 322
<211> 39
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 322
cttgaatttt catcagctgc gaggccaaac ccatttatc 39

<210> 323
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 323
gataaatggg tttggcgccc aagctgatga aaattc 36

<210> 324
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 324
gaattttcat cagcttgggc gccaaaccca tttatc 36

<210> 325
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 325

gtatatgcca ttaggtgcca tcagtgaaac attt 34

<210> 326
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 326
aaatgtttca ctgatggcac ctaatggcat atac 34

<210> 327
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 327
gatacggata aattagcttg tccagatcaa tc 32

<210> 328
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Prime

<400> 328
gattgatctg gacaagctaa tttatccgta tc 32

<210> 329
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 329
ggttatttat ggtgatgcgg ataaattatt ttg 33

<210> 330
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 330
caaaataatt tatccgcatc accataaata acc 33

<210> 331

<211> 30
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 331
ccttatcgga ggttgcttat ggtgatacgg 30

<210> 332
<211> 30
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 332
ccgtatcacc ataagcaacc tccgataagg 30

<210> 333
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 333
ggattcctta tcggaggcta tttatggtga tacgg 35

<210> 334
<211> 35
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 334
ccgtatcacc ataaatagcc tccgataagg aatcc 35

<210> 335
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 335
gtggaagcta aaccaggagc tgcattggtt gggtttg 37

<210> 336
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 336
caaacccaac caatgcagct cctggtttag cttccac 37

<210> 337
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 337
gtgatgaaga tgcaaaggcg attgtggaag ctaaacc 37

<210> 338
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 338
ggtttagctt ccacaatcgc ctttgcatct tcatcac 37

<210> 339
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 339
cctaattatg caaaatctaa aggaagtgat gaag 34

<210> 340
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 340
cttcatcact tcctttagat tttgcataat tagg 34

<210> 341
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 341

cctaattatg caaaaactaa aggaagtgat gaag 34

<210> 342
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 342
cttcatcact tcctttagtt tttgcataat tagg 34

<210> 343
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 343
cctaattatg caaaaaataa aggaagtgat gaag 34

<210> 344
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 344
cttcatcact tcctttattt tttgcataat tagg 34

<210> 345
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 345
cctaattatg caaaacaaaa aggaagtgat gaag 34

<210> 346
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 346
cttcatcact tccttttttgt tttgcataat tagg 34

<210> 347

<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 347
cctaattatg caaaaggtaa aggaagtgat gaag 34

<210> 348
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 348
cttcatcact tcctttacct tttgcataat tagg 34

<210> 349
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 349
gaagcggagt atgtaacgtt aagtgctaat g 31

<210> 350
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 350
cattagcact taacgttaca tactccgctt c 31

<210> 351
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 351
gaagcggagt atctaacgtt aagtgctaat g 31

<210> 352
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 352
cattagcact taacgttaga tactccgctt c 31

<210> 353
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 353
gaagcggagt atacaacgtt aagtgctaat g 31

<210> 354
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 354
cattagcact taacgttgta tactccgctt c 31

<210> 355
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 355
gaagcggagt ataatacgtt aagtgctaat g 31

<210> 356
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 356
cattagcact taacgtatta tactccgctt c 31

<210> 357
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 357

gaagcggagt atcaaacgtt aagtgctaat g 31

<210> 358
<211> 31
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 358
cattagcact taacgtttga tactccgctt c 31

<210> 359
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 359
gttaagtgct aatgttgatg gagtgtatat gc 32

<210> 360
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 360
gcatatacac tccatcaaca ttagcactta ac 32

<210> 361
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 361
gttaagtgct aatattgatg gagtgtatat gc 32

<210> 362
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 362
gcatatacac tccatcaata ttagcactta ac 32

<210> 363

<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 363
gttaagtgct aataatgatg gagtgtatat gc 32

<210> 364
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 364
gcatatacac tccatcatta ttagcactta ac 32

<210> 365
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 365
gttaagtgct aatcaagatg gagtgtatat gc 32

<210> 366
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 366
gcatatacac tccatcttga ttagcactta ac 32

<210> 367
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 367
gttaagtgct aatcgtgatg gagtgtatat gc 32

<210> 368
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 368
gcatatacac tccatcacga ttagcactta ac 32

<210> 369
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 369
gaaattgact taaataaggt aaaagtagaa tcaagtg 37

<210> 370
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 370
cacttgattc tacttttacc ttatttaagt caatttc 37

<210> 371
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 371
gaaattgact taaataagat aaaagtagaa tcaagtg 37

<210> 372
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 372
cacttgattc tacttttatc ttatttaagt caatttc 37

<210> 373
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 373

gaaattgact taaataaggg aaaagtagaa tcaagtg 37

<210> 374
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 374
cacttgattc tacttttccc ttatttaagt caatttc 37

<210> 375
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 375
gaaattgact taaataagtc aaaagtagaa tcaagtg 37

<210> 376
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 376
cacttgattc tacttttgac ttatttaagt caatttc 37

<210> 377
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 377
gaaattgact taaataagaa caaagtagaa tcaagtg 37

<210> 378
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 378
cacttgattc tactttgttc ttatttaagt caatttc 37

<210> 379

<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 379
gaaattgact taaataagga aaaagtagaa tcaagtg 37

<210> 380
<211> 37
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 380
cacttgattc tacttttcc ttatttaagt caatttc 37

<210> 381
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 381
gatacggata aattacagtg tccagatcaa tc 32

<210> 382
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 382
gattgatctg gacactgtaa tttatccgta tc 32

<210> 383
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 383
gatacggata aattatcttg tccagatcaa tc 32

<210> 384
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 384
gattgatctg gacaagataa tttatccgta tc 32

<210> 385
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 385
gatacggata aattaatgtg tccagatcaa tc 32

<210> 386
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 386
gattgatctg gacacattaa tttatccgta tc 32

<210> 387
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 387
gatacggata aattatggtg tccagatcaa tc 32

<210> 388
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 388
gattgatctg gacaccataa tttatccgta tc 32

<210> 389
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 389

gatacggata aattatattg tccagatcaa tc 32

<210> 390
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 390
gattgatctg gacaatataa tttatccgta tc 32

<210> 391
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 391
gatacggata aattagagtg tccagatcaa tc 32

<210> 392
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 392
gattgatctg gacactctaa tttatccgta tc 32

<210> 393
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 393
gatacggata aattacgttg tccagatcaa tc 32

<210> 394
<211> 32
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 394
gattgatctg gacaacgtaa tttatccgta tc 32

<210> 395

<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 395
gaaataaact tttcattgag ttggggacaa atgg 34

<210> 396
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 396
ccatttgtcc ccaactcaat gaaaagttta tttc 34

<210> 397
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 397
gaaataaact tttcattcgc ttggggacaa atgg 34

<210> 398
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 398
ccatttgtcc ccaagcgaat gaaaagttta tttc 34

<210> 399
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 399
gaaataaact tttcattagt ttggggacaa atgg 34

<210> 400
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 400
ccatttgtcc ccaaactaat gaaaagttta tttc 34

<210> 401
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 401
gaaataaact tttcattctc ttggggacaa atgg 34

<210> 402
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 402
ccatttgtcc ccaagagaat gaaaagttta tttc 34

<210> 403
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 403
gaaataaact tttcattatg ttggggacaa atgg 34

<210> 404
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 404
ccatttgtcc ccaacataat gaaaagttta tttc 34

<210> 405
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 405

gaaataaact tttcatttgg ttggggacaa atgg 34

<210> 406
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 406
ccatttgtcc ccaaccaaat gaaaagttta tttc 34

<210> 407
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 407
gaaataaact tttcatttac ttggggacaa atgg 34

<210> 408
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 408
ccatttgtcc ccaagtaaat gaaaagttta tttc 34

<210> 409
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 409
gaaataaact tttcattttc ttggggacaa atgg 34

<210> 410
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 410
ccatttgtcc ccaagaaaat gaaaagttta tttc 34

<210> 411

<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 411
aataccggat tatatatgga actttcccgt cgc 33

<210> 412
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 412
gcgacgggaa agttccatat ataatccggt att 33

<210> 413
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 413
aataccggat tatattggga actttcccgt cgc 33

<210> 414
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 414
gcgacgggaa agttcccaat ataatccggt att 33

<210> 415
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 415
aataccggat tatattatga actttcccgt cgc 33

<210> 416
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 416
gcgacgggaa agttcataat ataatccggt att 33

<210> 417
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 417
aataccggat tatatgaaga actttcccgt cgc 33

<210> 418
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 418
gcgacgggaa agttcttcat ataatccggt att 33

<210> 419
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 419
aataccggat tatatcgaga actttcccgt cgc 33

<210> 420
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 420
gcgacgggaa agttctcgat ataatccggt att 33

<210> 421
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 421

aataccggat tatatcaaga actttcccgt cgc 33

<210> 422
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 422
gcgacgggaa agttcttgat ataatccggt att 33

<210> 423
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 423
aataccggat tatatacaga actttcccgt cgc 33

<210> 424
<211> 33
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 424
gcgacgggaa agttctgtat ataatccggt att 33

<210> 425
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 425
gataaatggg tttggcatgc aagctgatga aaattc 36

<210> 426
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 426
gaattttcat cagcttgcat gccaaaccca tttatc 36

<210> 427

<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 427
gataaatggg tttggctggc aagctgatga aaattc 36

<210> 428
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 428
gaattttcat cagcttgcca gccaaaccca tttatc 36

<210> 429
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 429
gataaatggg tttggctacc aagctgatga aaattc 36

<210> 430
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến'

<400> 430
gaattttcat cagcttggta gccaaaccca tttatc 36

<210> 431
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 431
gataaatggg tttggcgagc aagctgatga aaattc 36

<210> 432
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 432
gaattttcat cagcttgctc gccaaaccca tttatc 36

<210> 433
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 433
gataaatggg tttggccgcc aagctgatga aaattc 36

<210> 434
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 434
gaattttcat cagcttggcg gccaaaccca tttatc 36

<210> 435
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 435
gataaatggg tttggccagc aagctgatga aaattc 36

<210> 436
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 436
gaattttcat cagcttgctg gccaaaccca tttatc 36

<210> 437
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 437

gataaatggg tttggcaccc aagctgatga aaattc 36

<210> 438
<211> 36
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 438
gaattttcat cagcttgggt gccaaaccca tttatc 36

<210> 439
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 439
ttactacagg aactgatgaa aagggagtgt attt 34

<210> 440
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 440
aaatacactc ccttttcatc agttcctgta gtaa 34

<210> 441
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 441
ttactacagg aactgatatg aagggagtgt attt 34

<210> 442
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 442
aaatacactc ccttcatatc agttcctgta gtaa 34

<210> 443

<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 443
ttactacagg aactgataat aagggagtgt attt 34

<210> 444
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 444
aaatacactc ccttattatc agttcctgta gtaa 34

<210> 445
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 445
ttactacagg aactgatcga aagggagtgt attt 34

<210> 446
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 446
aaatacactc cctttcgatc agttcctgta gtaa 34

<210> 447
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 447
ttactacagg aactgattca aagggagtgt attt 34

<210> 448
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 448
aaatacactc cctttgaatc agttcctgta gtaa 34

<210> 449
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 449
ttactacagg aactgattgg aagggagtgt attt 34

<210> 450
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 450
aaatacactc ccttccaatc agttcctgta gtaa 34

<210> 451
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 451
ttactacagg aactgattat aagggagtgt attt 34

<210> 452
<211> 34
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Đoạn khởi đầu đột biến

<400> 452
aaatacactc ccttataatc agttcctgta gtaa 34

<210> 453
<211> 26
<212> PRT
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự Epitop vectơ ngắn

<400> 453

Gly Met Ala Ser Met Ala Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg Asp Leu
1 5 10 15

Tyr Asp Asp Asp Asp Lys Asp Pro Thr Leu
20 25

<210> 454
<211> 2367
<212> ADN
<213> trình tự nhân tạo

<220>
<223> Trình tự mã hóa Vip3E tối ưu ngô (đột biến K455A

<400> 454
atgaacatga acaacaccaa gctcaacgcc cgcgccctcc cgtccttcat cgactacttc 60

aacggcatct acggcttcgc caccggcatc aaggacatca tgaacatgat cttcaagacc 120

gacaccggcg gcaacctcac cctcgacgag atcctcaaga accagcagct cctcaacgag 180

atcagcggca agctcgacgg cgtgaacggc tccctcaacg acctcatcgc ccagggcaac 240

ctcaacaccg agctgtccaa ggagatcctc aagatcgcca acgagcagaa ccaggtgctc 300

aacgacgtga acaacaagct cgacgccatc aacaccatgc tccacatcta cctcccgaag 360

atcacctcca tgctctccga cgtgatgaag cagaactacg ccctctccct ccagatcgag 420

tacctctcca agcagctcca ggagatcagc gacaagctcg acatcatcaa cgtgaacgtg 480

ctcatcaact ccaccctcac cgagatcacc ccggcctacc agcgcatcaa gtacgtgaac 540

gagaagttcg aggagctgac cttcgccacc gagaccaccc tcaaggtgaa gaaggactcc 600

tccccggccg acatcctcga cgagctgacc gagctgaccg agctggccaa gtccgtgacc 660

aagaacgacg tggacggctt cgagttctac ctcaacacct tccacgacgt gatggtgggc 720

aacaacctct tcggccgctc cgccctcaag accgcctccg agctgatcgc caaggagaac 780

gtgaagacct ccggctccga ggtgggcaac gtgtacaact tcctcatcgt gctcaccgcc 840

ctgcaggcca aggccttcct caccctcacc acctgccgca agctcctcgg cctcgccgac 900

atcgactaca cctccatcat gaacgagcac ctcaacaagg agaaggagga gttccgcgtg 960

aacatcctcc cgaccctctc caacaccttc tccaacccga actacgccaa ggtgaagggc 1020

tccgacgagg acgccaagat gatcgtggag gccaagccgg gccacgccct cgtgggcttc 1080

gagatgtcca acgactccat caccgtgctc aaggtgtacg aggccaagct caagcagaac 1140

taccaggtgg acaaggactc cctctccgag gtgatctacg gcgacaccga caagctcttc 1200

tgcccggacc agtccgagca gatatactac accaacaaca tcgtgttccc gaacgagtac 1260

gtgatcacca agatcgactt caccaagaag atgaagaccc tccgctacga ggtgaccgcc 1320

aacttctacg actcctccac cggcgagatc gacctcaaca aggcgaaggt ggagtcctcc 1380

gaggccgagt accgcaccct ctccgccaac gacgacggcg tgtacatgcc gctcggcgtg 1440

atctccgaaa ccttcctcac cccgatcaac ggcttcggcc tccaggccga cgagaactcc 1500

cgcctcatca ccctcacctg caagtcctac ctccgcgagc tgctcctcgc caccgacctc 1560

tccaacaagg agaccaagct catcgtgccg ccgtccggct tcatctccaa catcgtggag 1620

aacggctcca tcgaggagga caacctcgag ccgtggaagg ccaacaacaa gaacgcctac 1680

gtggaccaca ccggcggcgt gaacggcacc aaggccctct acgtgcacaa ggacggcggc 1740

ttctcccagt tcatcggcga caagctcaag ccgaagaccg agtacgtgat ccagtacacc 1800

gtgaagggca agccgtccat ccacctcaag gacgagaaca ccggctacat ccactacgag 1860

gacaccaaca acaacctcaa ggactaccag accatcacca agcgcttcac caccggcacc 1920

gacctcaagg gcgtgtacct catcctcaag tcccagaacg gcgacgaggc ctggggcgac 1980

aagttcacca tccttgagat caagccggcc gaggacctcc tctccccgga gctgatcaac 2040

ccgaactcct ggatcaccac cccgggcgcc tccatctccg gcaacaagct cttcatcaac 2100

ctcggcacca acggcacctt ccgccagtcc ctctccctca actcctactc cacctactcc 2160

atctccttca ccgcctccgg cccgttcaac gtgaccgtgc gcaactcccg cgaggtgctc 2220

ttcgagcgct ccaacctcat gtcctccacc tcccacatct ccggcacctt caagaccgag 2280

tccaacaaca ccggcctcta cgtggagctg tcccgccgct ccggcggcgg cggccacatc 2340

tccttcgaga acgtgtccat caagtag 2367

<210> 455
<211> 633
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 455

Met Asn Asn Val Leu Asn Ser Gly Arg Thr Thr Ile Cys Asp Ala Tyr
1 5 10 15

Asn Val Val Ala His Asp Pro Phe Ser Phe Glu His Lys Ser Leu Asp
20 25 30

Thr Ile Gln Lys Glu Trp Met Glu Trp Lys Arg Thr Asp His Ser Leu
35 40 45

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

Val Gly Ser Leu Ile Gly Lys Arg Ile Leu Ser Glu Leu Trp Gly Ile
65 70 75 80

Ile Phe Pro Ser Gly Ser Thr Asn Leu Met Gln Asp Ile Leu Arg Glu
85 90 95

```
Thr Glu Gln Phe Leu Asn Gln Arg Leu Asn Thr Asp Thr Leu Ala Arg
            100                 105                 110

Val Asn Ala Glu Leu Ile Gly Leu Gln Ala Asn Ile Arg Glu Phe Asn
        115                 120                 125

Gln Gln Val Asp Asn Phe Leu Asn Pro Thr Gln Asn Pro Val Pro Leu
    130                 135                 140

Ser Ile Thr Ser Ser Val Asn Thr Met Gln Gln Leu Phe Leu Asn Arg
145                 150                 155                 160

Leu Pro Gln Phe Gln Ile Gln Gly Tyr Gln Leu Leu Leu Leu Pro Leu
                165                 170                 175

Phe Ala Gln Ala Ala Asn Met His Leu Ser Phe Ile Arg Asp Val Ile
            180                 185                 190

Leu Asn Ala Asp Glu Trp Gly Ile Ser Ala Ala Thr Leu Arg Thr Tyr
        195                 200                 205

Arg Asp Tyr Leu Arg Asn Tyr Thr Arg Asp Tyr Ser Asn Tyr Cys Ile
    210                 215                 220

Asn Thr Tyr Gln Thr Ala Phe Arg Gly Leu Asn Thr Arg Leu His Asp
225                 230                 235                 240

Met Leu Glu Phe Arg Thr Tyr Met Phe Leu Asn Val Phe Glu Tyr Val
                245                 250                 255

Ser Ile Trp Ser Leu Phe Lys Tyr Gln Ser Leu Met Val Ser Ser Gly
            260                 265                 270

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

Thr Ala Gln Asn Trp Pro Phe Leu Tyr Ser Leu Phe Gln Val Asn Ser
    290                 295                 300

Asn Tyr Ile Leu Ser Gly Ile Ser Gly Thr Arg Leu Ser Ile Thr Phe
305                 310                 315                 320

Pro Asn Ile Gly Gly Leu Pro Gly Ser Thr Thr Thr His Ser Leu Asn
                325                 330                 335

Ser Ala Arg Val Asn Tyr Ser Gly Gly Val Ser Ser Gly Leu Ile Gly
            340                 345                 350
```

```
Ala Thr Asn Leu Asn His Asn Phe Asn Cys Ser Thr Val Leu Pro Pro
        355                 360                 365

Leu Ser Thr Pro Phe Val Arg Ser Trp Leu Asp Ser Gly Thr Asp Arg
    370                 375                 380

Glu Gly Val Ala Thr Ser Thr Asn Trp Gln Thr Glu Ser Phe Gln Thr
385                 390                 395                 400

Thr Leu Ser Leu Arg Cys Gly Ala Phe Ser Ala Arg Gly Asn Ser Asn
                405                 410                 415

Tyr Phe Pro Asp Tyr Phe Ile Arg Asn Ile Ser Gly Val Pro Leu Val
            420                 425                 430

Ile Arg Asn Glu Asp Leu Thr Arg Pro Leu His Tyr Asn Gln Ile Arg
        435                 440                 445

Asn Ile Glu Ser Pro Ser Gly Thr Pro Gly Gly Ala Arg Ala Tyr Leu
    450                 455                 460

Val Ser Val His Asn Arg Lys Asn Asn Ile Tyr Ala Ala Asn Glu Asn
465                 470                 475                 480

Gly Thr Met Ile His Leu Ala Pro Glu Asp Tyr Thr Gly Phe Thr Ile
                485                 490                 495

Ser Pro Ile His Ala Thr Gln Val Asn Asn Gln Thr Arg Thr Phe Ile
            500                 505                 510

Ser Glu Lys Phe Gly Asn Gln Gly Asp Ser Leu Arg Phe Glu Gln Ser
        515                 520                 525

Asn Thr Thr Ala Arg Tyr Thr Leu Arg Gly Asn Gly Asn Ser Tyr Asn
    530                 535                 540

Leu Tyr Leu Arg Val Ser Ser Ile Gly Asn Ser Thr Ile Arg Val Thr
545                 550                 555                 560

Ile Asn Gly Arg Val Tyr Thr Val Ser Asn Val Asn Thr Thr Thr Asn
                565                 570                 575

Asn Asp Gly Val Asn Asp Asn Gly Ala Arg Phe Ser Asp Ile Asn Ile
            580                 585                 590

Gly Asn Ile Val Ala Ser Asp Asn Thr Asn Val Thr Leu Asp Ile Asn
        595                 600                 605
```

Val Thr Leu Asn Ser Gly Thr Pro Phe Asp Leu Met Asn Ile Met Phe
610 615 620

Val Pro Thr Asn Leu Pro Pro Leu Tyr
625 630

<210> 456
<211> 622
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 456

Met Asn Thr Val Leu Asn Asn Gly Arg Asn Thr Thr Cys His Ala His
1 5 10 15

Asn Val Val Ala His Asp Pro Phe Ser Phe Glu His Lys Ser Leu Asn
20 25 30

Thr Ile Glu Lys Glu Trp Lys Glu Trp Lys Arg Thr Asp His Ser Leu
35 40 45

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

Val Gly Ser Leu Val Gly Lys Arg Ile Leu Ser Glu Leu Gln Asn Leu
65 70 75 80

Ile Phe Pro Ser Gly Ser Ile Asp Leu Met Gln Glu Ile Leu Arg Ala
85 90 95

Thr Glu Gln Phe Ile Asn Gln Arg Leu Asn Ala Asp Thr Leu Gly Arg
100 105 110

Val Asn Ala Glu Leu Ala Gly Leu Gln Ala Asn Val Ala Glu Phe Asn
115 120 125

Arg Gln Val Asp Asn Phe Leu Asn Pro Asn Gln Asn Pro Val Pro Leu
130 135 140

Ala Ile Ile Asp Ser Val Asn Thr Leu Gln Gln Leu Phe Leu Ser Arg
145 150 155 160

Leu Pro Gln Phe Gln Ile Gln Gly Tyr Gln Leu Leu Leu Leu Pro Leu
165 170 175

Phe Ala Gln Ala Ala Asn Phe Asn Leu Ser Phe Ile Arg Gly Val Ile
180 185 190

```
Leu Asn Ala Asp Glu Trp Gly Ile Ser Ala Ala Thr Val Arg Thr Tyr
        195                 200                 205

Arg Asp His Leu Arg Lys Phe His Arg Asp Tyr Ser Asn Tyr Cys Ile
    210                 215                 220

Asn Pro Tyr Gln Thr Ala Phe Arg Gly Leu Asn His Arg Leu Pro Asp
225                 230                 235                 240

Met Leu Glu Phe Arg Thr Tyr Met Phe Leu Asn Val Phe Glu Tyr Val
                245                 250                 255

Ser Ile Trp Ser Leu Phe Lys Tyr Gln Ser Leu Leu Val Ser Ser Gly
            260                 265                 270

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

Gln Asn Trp Pro Phe Leu Tyr Ser Leu Phe Gln Val Asn Ser Asn Tyr
    290                 295                 300

Val Leu Asn Gly Leu Ser Gly Ala Arg Thr Thr Ile Thr Phe Pro Asn
305                 310                 315                 320

Ile Gly Gly Leu Pro Val Tyr His Asn Ser Thr Leu His Phe Ala Arg
                325                 330                 335

Ile Asn Tyr Arg Gly Gly Val Ser Ser Ser Arg Ile Gly Gln Ala Asn
            340                 345                 350

Leu Asn Gln Asn Phe Asn Ile Ser Thr Leu Phe Asn Pro Leu Gln Thr
        355                 360                 365

Pro Phe Ile Arg Ser Trp Leu Asp Ser Gly Thr Asp Arg Glu Gly Val
    370                 375                 380

Ala Thr Ser Thr Asn Trp Gln Ser Gly Ala Phe Glu Thr Thr Leu Leu
385                 390                 395                 400

Arg Phe Ser Ile Phe Ser Ala Arg Gly Asn Ser Asn Phe Phe Pro Asp
                405                 410                 415

Tyr Phe Ile Arg Asn Ile Ser Gly Val Val Gly Thr Ile Ser Asn Ala
            420                 425                 430

Asp Leu Ala Arg Pro Leu His Phe Asn Glu Ile Arg Asp Ile Gly Thr
        435                 440                 445
```

Thr Ala Val Ala Ser Leu Val Thr Val His Asn Arg Lys Asn Asn Ile
450 455 460

Tyr Asp Thr His Glu Asn Gly Thr Met Ile His Leu Ala Pro Asn Asp
465 470 475 480

Tyr Thr Gly Phe Thr Val Ser Pro Ile His Ala Thr Gln Val Asn Asn
485 490 495

Gln Ile Arg Thr Phe Ile Ser Glu Lys Tyr Gly Asn Gln Gly Asp Ser
500 505 510

Leu Arg Phe Glu Leu Ser Asn Pro Thr Ala Arg Tyr Thr Leu Arg Gly
515 520 525

Asn Gly Asn Ser Tyr Asn Leu Tyr Leu Arg Val Ser Ser Ile Gly Ser
530 535 540

Ser Thr Ile Arg Val Thr Ile Asn Gly Arg Val Tyr Thr Ala Asn Val
545 550 555 560

Asn Thr Thr Thr Asn Asn Asp Gly Val Leu Asp Asn Gly Ala Arg Phe
565 570 575

Ser Asp Ile Asn Ile Gly Asn Val Val Ala Ser Ala Asn Thr Asn Val
580 585 590

Pro Leu Asp Ile Gln Val Thr Phe Asn Gly Asn Pro Gln Phe Glu Leu
595 600 605

Met Asn Ile Met Phe Val Pro Thr Asn Leu Pro Pro Leu Tyr
610 615 620

<210> 457
<211> 633
<212> PRT
<213> Bacillus thuringiensis

<400> 457

Met Asn Ser Val Leu Asn Ser Gly Arg Thr Thr Ile Cys Asp Ala Tyr
1 5 10 15

Asn Val Ala Ala His Asp Pro Phe Ser Phe Gln His Lys Ser Leu Asp
20 25 30

Thr Val Gln Lys Glu Trp Thr Glu Trp Lys Lys Asn Asn His Ser Leu
35 40 45

```
Tyr Leu Asp Pro Ile Val Gly Thr Val Ala Ser Phe Leu Leu Lys Lys
    50                  55                  60

Val Gly Ser Leu Val Gly Lys Arg Ile Leu Ser Glu Leu Arg Asn Leu
65                  70                  75                  80

Ile Phe Pro Ser Gly Ser Thr Asn Leu Met Gln Asp Ile Leu Arg Glu
                85                  90                  95

Thr Glu Lys Phe Leu Asn Gln Arg Leu Asn Thr Asp Thr Leu Ala Arg
            100                 105                 110

Val Asn Ala Glu Leu Thr Gly Leu Gln Ala Asn Val Glu Glu Phe Asn
        115                 120                 125

Arg Gln Val Asp Asn Phe Leu Asn Pro Asn Arg Asn Ala Val Pro Leu
    130                 135                 140

Ser Ile Thr Ser Ser Val Asn Thr Met Gln Gln Leu Phe Leu Asn Arg
145                 150                 155                 160

Leu Pro Gln Phe Gln Met Gln Gly Tyr Gln Leu Leu Leu Leu Pro Leu
                165                 170                 175

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

Leu Asn Ala Asp Glu Trp Gly Ile Ser Ala Ala Thr Leu Arg Thr Tyr
        195                 200                 205

Arg Asp Tyr Leu Lys Asn Tyr Thr Arg Asp Tyr Ser Asn Tyr Cys Ile
    210                 215                 220

Asn Thr Tyr Gln Ser Ala Phe Lys Gly Leu Asn Thr Arg Leu His Asp
225                 230                 235                 240

Met Leu Glu Phe Arg Thr Tyr Met Phe Leu Asn Val Phe Glu Tyr Val
                245                 250                 255

Ser Ile Trp Ser Leu Phe Lys Tyr Gln Ser Leu Leu Val Ser Ser Gly
            260                 265                 270

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

Thr Ser Gln Asp Trp Pro Phe Leu Tyr Ser Leu Phe Gln Val Asn Ser
    290                 295                 300
```

```
Asn Tyr Val Leu Asn Gly Phe Ser Gly Ala Arg Leu Ser Asn Thr Phe
305                 310                 315                 320

Pro Asn Ile Val Gly Leu Pro Gly Ser Thr Thr Thr His Ala Leu Leu
                325                 330                 335

Ala Ala Arg Val Asn Tyr Ser Gly Gly Ile Ser Ser Gly Asp Ile Gly
            340                 345                 350

Ala Ser Pro Phe Asn Gln Asn Phe Asn Cys Ser Thr Phe Leu Pro Pro
        355                 360                 365

Leu Leu Thr Pro Phe Val Arg Ser Trp Leu Asp Ser Gly Ser Asp Arg
    370                 375                 380

Glu Gly Val Ala Thr Val Thr Asn Trp Gln Thr Glu Ser Phe Glu Thr
385                 390                 395                 400

Thr Leu Gly Leu Arg Ser Gly Ala Phe Thr Ala Arg Gly Asn Ser Asn
                405                 410                 415

Tyr Phe Pro Asp Tyr Phe Ile Arg Asn Ile Ser Gly Val Pro Leu Val
            420                 425                 430

Val Arg Asn Glu Asp Leu Arg Arg Pro Leu His Tyr Asn Glu Ile Arg
        435                 440                 445

Asn Ile Ala Ser Pro Ser Gly Thr Pro Gly Gly Ala Arg Ala Tyr Met
    450                 455                 460

Val Ser Val His Asn Arg Lys Asn Asn Ile His Ala Val His Glu Asn
465                 470                 475                 480

Gly Ser Met Ile His Leu Ala Pro Asn Asp Tyr Thr Gly Phe Thr Ile
                485                 490                 495

Ser Pro Ile His Ala Thr Gln Val Asn Asn Gln Thr Arg Thr Phe Ile
            500                 505                 510

Ser Glu Lys Phe Gly Asn Gln Gly Asp Ser Leu Arg Phe Glu Gln Asn
        515                 520                 525

Asn Thr Thr Ala Arg Tyr Thr Leu Arg Gly Asn Gly Asn Ser Tyr Asn
    530                 535                 540

Leu Tyr Leu Arg Val Ser Ser Ile Gly Asn Ser Thr Ile Arg Val Thr
545                 550                 555                 560
```

```
Ile Asn Gly Arg Val Tyr Thr Ala Thr Asn Val Asn Thr Thr Thr Asn
                565                 570                 575

Asn Asp Gly Val Asn Asp Asn Gly Ala Arg Phe Ser Asp Ile Asn Ile
            580                 585                 590

Gly Asn Val Val Ala Ser Ser Asn Ser Asp Val Pro Leu Asp Ile Asn
        595                 600                 605

Val Thr Leu Asn Ser Gly Thr Gln Phe Asp Leu Met Asn Ile Met Leu
    610                 615                 620

Val Pro Thr Asn Ile Ser Pro Leu Tyr
625                 630
```