(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년06월25일
(11) 등록번호 10-2677852
(24) 등록일자 2024년06월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/62 (2006.01) *A61K 38/00* (2006.01)
(52) CPC특허분류
C07K 14/62 (2013.01)
A61K 38/00 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2017-7026343
(22) 출원일자(국제) 2016년03월14일
심사청구일자 2021년02월03일
(85) 번역문제출일자 2017년09월19일
(65) 공개번호 10-2017-0125853
(43) 공개일자 2017년11월15일
(86) 국제출원번호 PCT/US2016/022390
(87) 국제공개번호 WO 2016/149222
국제공개일자 2016년09월22일
(30) 우선권주장
62/133,251 2015년03월13일 미국(US)
62/132,704 2015년03월13일 미국(US)
(56) 선행기술조사문헌
WO2014093696 A2

(73) 특허권자
케이스 웨스턴 리저브 유니버시티
미국 44106 오하이오주 클리블랜드 유클리드 애비뉴 10900
(72) 발명자
웨이쓰, 마이클
미국, 오하이오 44022, 모어랜드 힐즈, 70 우드번 드라이브
(74) 대리인
정문영

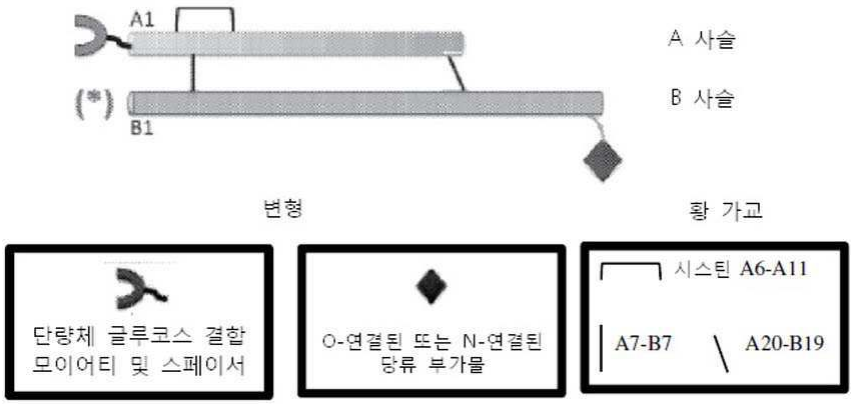
전체 청구항 수 : 총 13 항 심사관 : 강덕희

(54) 발명의 명칭 **글루코스 조절된 구조 전환을 포함하는 인슐린 유사체**

(57) 요 약

2사슬 인슐린 유사체는 (i) N 말단 또는 그 근처에 단량체 글루코스 결합 요소 및 (ii) C 말단 또는 그 근처에서 변형된 B 사슬에 의해 변형된 A 사슬을 포함하고, 상기 단량체 글루코스 결합 요소에 가역적으로 결합함으로써 본 연결이 글루코스에 의해 치환된다. 상기 단량체 글루코스 결합 요소는 페닐보론산 유도체(선택적으로 할로겐화될 수 있음)일 수 있다. 상기 B 사슬은 단당류, 이당류 또는 올리고당류, 비당류 디올 함유 모이어티 또는 α-하이드록시 카르복실레이트 함유 모이어티로부터 유도된 디올 함유 요소에 의해 변형될 수 있다. 상기 유사체는 트립신 매개된 반합성에 의해 제조될 수 있다. 제제는 인슐린 유사체 단량체당 0.0-3.0 이온의 몰비에서 아연 이온의 유무에 관계없이 pH 7.0-8.0의 가용성 용액에서 U-10 내지 U-1000 강도에서 존재할 수 있다. 당뇨병 환자는 생리학적 유효량의 인슐린 유사체의 피하, 복강 내 또는 경구 투여로 치료할 수 있다.

대 표 도 - 도3a



(52) CPC특허분류
C07K 14/622 (2013.01)
C07K 2319/20 (2013.01)
C07K 2319/70 (2013.01)

명 세 서

청구범위

청구항 1

변형된 A 사슬 폴리펩티드 및 변형된 B 사슬 폴리펩티드를 함유하며, 상기 A 사슬은 상기 A 사슬의 N 말단의 5개 이내의 잔기에서의 페닐보론산 또는 할로겐 변형된 페닐보론산 유도체를 포함하는 단량체 글루코스 결합 모이어티에 의해 변형되고, 상기 B 사슬은 위치 B27, B28, B29, B30 또는 선택적 연장 위치 B31 또는 B32 중 어느 위치에서 단당류 변형에 의해 변형되는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 단당류 변형이 티올기를 함유하거나 아미노기를 함유하는 D-아미노산의 측쇄를 통해 접합되는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 D-아미노산이 D-시스테인, D-호모시스테인, D-리신, D-오르니틴, D-디아미노부티르산, 또는 D-디아미노프로피온산인 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 4

삭제

청구항 5

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 단량체 글루코스 결합 모이어티가 1 내지 16개의 탄소 원자를 선택적으로 갖는 아실기인 스페이서 성분을 통해 인슐린 A 사슬에 접합되는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 6

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 단량체 글루코스 결합 모이어티가 알파-아미노 관능기에 연결된 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 7

제6항에 있어서,

상기 단량체 글루코스 결합 모이어티는 위치 A1에서 치환된 D-리신, D-오르니틴, D-디아미노부티르산, 또는 D-디아미노프로피온산의 측쇄 아미노 관능에 연결되거나, 위치 A4에서 치환된 L-리신, L-오르니틴, L-디아미노부티르산, 또는 L-디아미노프로피온산의 측쇄 아미노 관능에 연결되는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

제2 단량체 글루코스 결합 모이어티가 잔기 B1의 알파-아미노 관능에 동시에 연결되는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 11

제1항에 있어서,

상기 B 사슬이 서열번호 7 내지 50 중 어느 하나에 일치하고, 상기 A 사슬이 서열번호 51 내지 53 중 어느 하나에 일치하는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 12

삭제

청구항 13

삭제

청구항 14

삭제

청구항 15

삭제

청구항 16

삭제

청구항 17

삭제

청구항 18

삭제

청구항 19

제1항에 있어서,

상기 단당류 변형이 Ser, Thr, Asn, Gin, Cys 또는 호모시스테인의 측쇄에 부착되는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 20

제19항에 있어서,

상기 단당류 변형은 측쇄, 또는 Thr^{B27},Thr^{B30}, 또는 상기 B 사슬 2-잔기 연장 내 아미노산을 통해 부착되는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 21

삭제

청구항 22

제19항에 있어서,

상기 단당류 변형이 글루코스, 만노스 및 N-아세틸-갈락토스로부터 선택되는 것을 특징으로 하는 인슐린

유사체.

청구항 23

삭제

청구항 24

제19항에 있어서,

약제인 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체.

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

청구항 31

삭제

청구항 32

삭제

청구항 33

삭제

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

변형된 A 사슬 폴리펩티드 및 변형된 B 사슬 폴리펩티드를 포함하며, 상기 A 사슬은 상기 A 사슬의 N 말단의 5개 이내의 잔기에서의 페닐보론산 또는 할로겐 변형된 페닐보론산 유도체를 포함하는 단량체 글루코스 결합 모이어티에 의해 변형되고, 상기 B 사슬은 위치 B27, B28, B29, B30 또는 선택적 연장 위치 B31 또는 B32 중 어느 위치에서 단당류 변형에 의해 변형되는 인슐린 유사체 제조 방법으로서,

(a) 인슐린 또는 인슐린 유사체의 des-옥타펩디드[B23-B30] 단편을 제공하는 단계;

(b) 페닐보론산의 당류 에스터를 제공하는 단계;

(c) 페닐보론산을 상기 인슐린 또는 인슐린 유사체의 des-옥타펩티드[B23-B30]에 결합을 유도하는 조건에서 상기 인슐린 또는 인슐린 유사체의 des-옥타펩티드[B23-B30] 단편 및 상기 페닐보론산의 당류 에스터를 배양하여, 상기 인슐린 또는 인슐린 유사체의 des-옥타펩티드[B23-B30]의 인슐린 A 사슬의 N 말단에 결합된 페닐보론산을 제공하는 단계;

(d) N 말단 잔기가 글리신이고 변형시 트립신 절단 부위를 함유하지 않는 아미노산 잔기 6-10개 길이를 가지며 N-결합 또는 O-결합된 당류를 포함하는 합성 펩티드를 제공하는 단계; 및

(e) 트립신의 효소 활성을 유도하는 조건에서 상기 인슐린 또는 인슐린 유사체의 des-옥타펩티드[B23-B30] 단편을 갖는 상기 합성 펩티드를 트립신의 존재 상태에서 배양함으로써, 상기 트립신이 상기 합성 펩티드 및 상기 인슐린 또는 인슐린 유사체의 des-옥타펩티드[B23-B30] 단편 사이의 결합 형성을 촉진하도록 하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체 제조 방법.

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] 연방 후원 연구 또는 개발에 관한 진술

[0002] 본 발명은 허가 번호 DK040949하에 미국 국립 보건원에 의해 수여된 협력 협정에 의한 정부 지원으로 이루어졌다. 미국 정부는 본 발명에 대한 일정한 권리를 갖는다.

[0003] 본 발명은 글루코스 구조(conformation) 전환을 포함함으로써 호르몬 분해의 글루코스 반응비 또는 동일 계통의 세포 수용체에 결합하는 글루코스 반응을 나타내는 것을 특징으로 하는 폴리펩티드 호르몬 유사체에 관한 것이다. 인슐린에 대한 적용은 피하, 복강 또는 정맥 주사에 의한 제1형 또는 제2형 당뇨병을 갖는 환자 및 비인간 포유 동물의 치료와 관련하여 설명된다. 또한, 본 발명의 인슐린 유사체는 증가된 열역학 안정성, 실온 이상에서의 열 세동에 대한 증강된 저항성, 감소된 유사분열촉진성(mitogenicity) 및/또는 변경된 약동학 및 약력학 특성과 같은 다른 증진된 약학 특성을 나타낼 수 있다. 보다 구체적으로는, 본 발명은 신속한 작용(통상적인 가용성 제제에 있어서 야생형(wild-type) 인슐린과 관련), 중간 작용(당업계에 공지된 NPH 인슐린 제제와 비교한 경우), 또는 지연된 작용(당업계에 인슐린 디터머(detemir) 및 인슐린 글라진(glargine)으로 대표되는 공지된 기저 인슐린과 비교한 경우)을 부여함으로써, 상기 인슐린 수용체에 대한 상기 유사체의 친화도가 생리적 범위(> 140 mg/dl; 고혈당증) 이상의 농도로 글루코스를 함유하는 용액에 용해될 경우가 생리적 범위(<80 mg/dl; 저혈당증) 미만의 농도로 글루코스를 함유하는 용액에 용해되었을 경우보다 더 높아지는 인슐린 유사체에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0004] 치료제와 백신을 포함한 비표준 단백질 조작은 광범위한 의학적 및 사회적 이점을 가질 수 있다. 자연 발생 단백질(일반적으로 인간, 기타 포유동물, 척추 동물, 무척추 동물 또는 진핵 세포의 유전체에 코딩되어 있음)은 세포 환경 내에서는 최적으로 기능하도록 진화했을 수 있지만, 치료용으로는 준최적일 수 있다. 그러한 단백질의 유사체는 향상된 생물리학적, 생화학적 또는 생물학적 특성을 나타낼 수있다. 단백질 유사체의 이점은 바람직하지 않은 부작용(암세포의 증식을 촉진하거나 지질의 생합성을 증가시키는 것 등)이 감소된 향상된 활성(고혈당증의 조건 하에서 혈당 농도의 감소로 이어지는 신진대사의 대사 조절 등)을 달성할 수 있다는 것이다. 예컨대, 치료용 단백질은 인슐린에 의해 제공된다. 야생형 인간 인슐린 및 인슐린 수용체에 결합하는 기타 포유동물의 유전체에 코딩된 인슐린 분자는 RNA 잇기(splicing)의 선택적 모드에 의해 또는 번역후-당화의 선택적 패턴에 의해 생성된 아형(isoform) 수용체와 무관한 다수의 기관 및 다양한 유형의 세포이다. 표적 세포 표면의 인슐린 수용체에 대한 내재적인 친화성을 가지며, 그에 따라 그의 생물학적 효능이 혈류의 글루코스 농도에 의존하는 가용성 인슐린 유사체의 비표준 설계를 의학적 이점의 예로서 들 수 있을 것이다.

[0005] 인슐린 분자는 2개의 사슬을 포함하는데, A사슬은 21개의 잔기를 포함하며 B사슬은 30개의 잔기를 포함한다. 성숙 호르몬은 도 1에 도시된 바와 같이 프로 인슐린으로 표시되는 연장된 단일 사슬 전구체로부터 파생된다. 상기 인슐린 분자에서 특정 잔기들은 아미노산 유형(전형적인 표준 3문자 코드; 예컨대, Lys 및 Ala는 각각 리신 및 알라닌을 나타낸다), 및 사슬(A 또는 B)과 상기 사슬 내의 위치를 나타내는 위첨자로 표시된다. 예컨대, 인간 인슐린의 B 사슬의 14번 위치에있는 알라닌은 Ala^{B14}로 표시되며; 마찬가지로, 인슐린 lispro(의 활성 성분 Humalog®; Eli Lilly사)의 B28 위치에 있는 리신은 Lys^{B28}로 표시된다. 호르몬은 췌장 β-세포에 Zn^{2+}안정화된 육량체로 저장되지만, 혈류에서는 Zn^{2+}가 없는 단량체로 작용한다. 인슐린 투여는 당뇨병 치료법으로 오랫동안 확립되어 왔다. 당뇨병 환자에 대한 종래 인슐린 보충 요법의 주요 목표는 건강한 인간 피험자의 정상 범위 특성을 초과 또는 미달하여 이탈되지 않도록 혈당 농도를 엄격하게 통제하는 것이다. 정상 범위를 초과하여 이탈하는 것은 망막장애, 실명 및 신부전을 포함한 미세혈관 질환에서 장기적인 위험이 증가하는 것과 관련이 있다. 당뇨병 환자에게 저혈당증은 인슐린 대체 요법중에 빈번하게 발생하는 합병증이며, 심한 경우에는 심각한 병적 상태(정신 상태의 변화, 의식 상실, 발작 및 사망 등)를 야기할 수 있다. 실제로, 이러한 합병증에 대한 두려움은 혈당 농도를 엄격하게 통제하고자 하는 환자(및 의사)에게 주요한 장애물이 되고(따라서, 정상 범위 이내 또는 조금 상회하는 것은 용인된다), 장기성 제2형 당뇨병 환자에게 그러한 노력("엄격한 통제")은 사망할 확률을 증가시킬 수 있다. 심각한 저혈당증에 따른 상기 결과(신경 저혈당 효과라고 함)뿐만 아니라, 경미한 저혈당 역시 교감 신경계의 과다 활성화를 포함한 역-조절 기제를 활성화시켜 불안 및 떨림(아드레날린성 증상)을 야기할 수 있다. 당뇨병 환자는 그러한 경고 신호를 보이지 않을 수 있지만 저혈당 비인지(unawareness)라는 상태일 수

있다. 경미한 저혈당증의 증상이 없으면 주요한 저혈당의 위험과 관련된 병증 및 사망률이 증가한다. 또한, 저혈당증이 자주 재발하는 것은 만성적 인지 기능 저하와 관련이 있는데, 제안된 메커니즘은 장기적인 당뇨병 환자의 치매 유병률 증가에 주목하고 있다. 따라서, 혈당 농도가 정상 범위 이상으로 이탈하는 것을 방지하면서 저혈당의 위험을 감소시킬 수 있는 새로운 당뇨병 치료 기술이 절실히 필요하다.

[0006] 인슐린 치료 환자의 저혈당의 위험을 완화하기 위한 다양한 기술들이 개발되어 왔다. 상기와 같은 모든 노력의 기초는 저혈당 증상에 관한 환자(및 그 가족 구성원들)에 대한 교육에 있고, 이러한 증상에 대한 인식을 기반으로 글루코스, 자당 또는 기타 신속하게 소화되는 형태의 탄수화물이 풍부한 음식이나 액체를 섭취가 긴급하게 필요하게 된다. 이에, 자당(사탕수수 설탕)으로 보충된 오렌지 주스를 예로 들 수 있다. 이러한 기본 접근법은 입, 목, 위 및 소장의 점막을 통해 빠르게 흡수될 수 있는 형태로 글루코스를 함유한 유제가 담긴 스퀴즈 튜브와 같은 특정 당뇨병 중심의 제품들이 개발되면서 연장되었다. 또한 마찬가지로, 분말로 제공되는 길합 호르몬 글루카곤의 제조도 심각한 저혈당의 응급 처치법으로서 급속 용해 및 피하 주사가 가능한 형태로 개발되었다. 인슐린 펌프가 글루코스 모니터에 계속적으로 연결되어 포도당 농도의 저혈당 수치가 발생하면 인슐린의 피하 주사가 중단되고 경보가 울리게 된다. 상기와 같은 장치 기반 접근법을 통하여, 펌프와 모니터가 컴퓨터 기반 알고리즘과 결합되어 "인공 췌장"의 역할을 하는 폐쇄 루프 시스템에 관한 실험적인 테스트를 도출했다.

[0007] 피하 저장소로부터 호르몬 배출 속도가 상기 포도당 농도에 따라 인슐린 유사체 또는 변형된 인슐린 분자를 함께 투여할 수 있도록 하는 글루코스 반응성 물질의 개발에 대한 관심이 30년 이상 존재했다. 일반적으로 이러한 시스템은 글루코스 반응성 중합체, 겔, 또는 기타 캡슐화 물질을 포함한다; 또한, 호르몬이 상기 물질에 결합될 수 있도록 하는 변형을 포함하는 인슐린 유도체가 필요할 수도 있다. 피하 주사 부위의 간질액 내 글루코스 주변 농도가 증가하면, 호르몬의 경쟁적 변위에 의하거나 상기 중합체, 겔 또는 기타 캡슐화 물질의 특성에 있어서의 물리화학적 변화에 의해 결합된 인슐린 또는 인슐린 유도체가 변위될 수 있다. 상기 시스템의 목적은 캡슐화되거나 겔코팅된 피하 저장소에 내재적인 자동 조절 특성을 제공함으로써, 글루코스 주위 농도가 정상 범위 이내이거나 미만인 경우 인슐린을 지연 배출하여 저혈당 위험을 완화시키는 것이다. 현재까지 이러한 글루코스 반응 시스템은 임상용으로 사용되지 않았다.

[0008] 최근의 기술은 담체 분자와 선택적으로 결합된 변형 인슐린 분자 구조를 이용함으로써, 상기 변형된 인슐린 분자와 상기 담체 사이의 복합체가 용해 가능하게 되어 혈류로 유입될 수 있도록 한다. 이러한 개념은 자유 호르몬이 혈류에 유입될 때 상기 폴리머, 겔 또는 기타 캡슐화 물질이 피하 저장소에 남아있는 글루코스 반응 저장소와는 다른 것이다. 이러한 접근법의 실시예는 해당 기술분야에 공지되어 있는데, A 사슬은 자신의 N-말단 또는 그 근처에서 변형되어(잔기 A1의 α-아미노기 또는 A2, A3, A4 또는 A5 위치에서 치환된 리신의 ε-아미노기를 사용함) "친화성 리간드"(단당류 모이어티(moiety)로 정의됨)를 함유하고, B 사슬은 자신의 N-말단 또는 그 근처에서 변형되어(잔기 B1의 α-아미노기 또는 B2, B3, B4 또는 B5 위치에서 치환된 리신의 ε-아미노기를 사용함) "1가 글루코스 결합제"를 함유한다. 본 명세서에서는, 예시된 또는 예상된 글루코스 결합제(단량체 렉틴 도메인, DNA 앱타머 또는 펩티드 앱타머)의 큰 크기로 인해 상기에 정의된 바와 같은 B 사슬의 N-말단 세그먼트로의 배위가 제한되었다. 외인성 글루코스 또는 기타 외인성 단당류가 없는 경우, A1과 연결된 친화성 리간드와 B1과 연결된 글루코스 결합제 사이의 분자간 상호 작용이 호르몬의 구조를 "폐쇄"하여 그 활성을 손상시키는 것으로 보았다. 이러한 종류의 분자 설계를 갖는 일반적인 글루코스 반응 특성만 보고된 바 있다(Zion 외. 2012).

[0009] 친화성 리간드에 의해 잔기 A1 또는 그 근처에서 변형되고 동시에 대형의 글루코스 결합제(즉, 인슐린 A 또는 B 사슬의 크기와 유사하거나 더 큰 크기)에 의해 잔기 B1 또는 그 근처에서 변형된 인슐린 유사체의 준최적 특성은 이러한 종류의 분자 설계에 내재되어 있을 가능성이 있다. 실제로, 상기와 같은 설계에 대한 이론적 근거는 잔기 A1 및 B1의 α-아미노기 사이의 짧은 화학적 가교 결합을 함유하는 인슐린 유사체의 낮은 활성에 따른 것이지만, 인슐린 A 또는 B 사슬의 길이와 비슷하거나 초과하는 길이를 갖는 상기 잔기들 사이의 펩티드 링커를 함유하는 인슐린 유사체의 본연의 활성 또는 증가된 활성을 간과한 것이다. 즉, 상기 인슐린 유사체의 추정된 "폐쇄" 형태는 실제로는 (외인성 글루코스가 존재하는 변형된 인슐린에 비해) 수용체 결합의 유의미한 손상을 제공하기 위한 구조(conformation)로 적절하게 제한되지 않을 수 있으며, 따라서 유용하거나 최적인 글루코스 의존적인 생체 활성을 제공될 수 있다. 상기와 같은 종류의 인슐린 유사체의 처방은 활성의 뚜렷한 감소를 간과한 것으로서, 유리 글루코스 농도와 무관하게, A2 또는 A3 잔기(Ile^{A2}또는 Val^{A3})가 다른 지방족 또는 비지방족 아미노산(리신 등)으로 치환되는 것을 야기할 수 있다; 이들 유사체는 무시해도 될 정도의 생체 활성을 가질 것으로 예상될 수 있으며, 따라서 당업계에 오랫동안 공지되어 있는 바와 같이 유용하지 않을 것이다. 또한, 인슐린 유사체를 인슐린 수용체에 결합시키면 손상을 받을 수는 있겠지만, 위치 A1에서 리신으로 치환하는 것보다는 덜 손상될 것이다. 또한, 상기와 같은 유형의 인슐린 유사체에서 간과되는 것은 인슐린 수용체에 대한 유사체의

친화도에 영향을 미칠뿐만 아니라 인슐린 자가 결합의 정도 및 그 분해 속도에 영향을 미칠 수 있는 또 다른 유형의 글루코스 조절된 구조 전환(conformational switch)상의 잠재적인 이점인데, 피하 저장소의 글루코스 조절된 약동학적 특성과 관련이 있을 수 있기 때문이다.

[0010] 놀랍게도, 근본적으로 다른 부류의 분자 설계를 통하여 상기와 같은 단점이 없이도 인슐린 분자의 폐쇄 상태와 개방 상태간의 글루코스 의존적인 입체형태 전환을 최적으로 제공할 수 있다는 것을 본 출원의 발명자들은 발견했다. 따라서, 본 발명에 따른 유사체는 A 사슬의 N 말단 또는 그 근처가 아닌 B 사슬의 C 말단 또는 그 근처에서의 하나 이상의 단당류 변형을 포함한다(도 3A 및 3B). 또한, 본 발명에 따른 유사체는 잔기 B1 또는 그 근처에서 부피가 큰 글루코스 결합제를 사용하는 대신에 잔기 A1 또는 그 근처에서 미세한 화학 물질(페닐보론산 유도체; PBA)을 사용한다. 본 발명에 따른 상기 폐쇄 상태는, B 사슬의 C 말단 또는 그 근처의 당류 변형(또는 유사한 관능기를 갖는 비당류 유사체) 및 A 사슬의 N 말단 또는 그 근처의 미세한 화학 물질 사이의 상호 작용(공유 결합이거나 비공유 결합이지만 가역적임)에 의해 결합된 것이므로, 종래 개시된 내용과는 상이하며 무관한 것이다. 본 발명의 폐쇄 상태는 인슐린 수용체와 결합하도록 개방되는 인슐린 분자의 보호 힌지를 이용한다. 짧은 공유 결합이 B 사슬의 C 말단을 A 사슬의 N 말단에 연결시키는 미니 프로인슐린 또는 단일 사슬 인슐린 유사체는 매우 낮거나 검출할 수 없는 정도의 활성을 나타내는 것으로 당업계에 공지되어 있다(도 2). A 사슬의 N 말단 또는 그 근처에 부착된 PBA 모이어티의 작은 크기 및 B 사슬의 C 말단 또는 그 근처의 동족 PBA결합 요소에 대한 그의 가역적 결합은, 인슐린의 전형적인 이량체화 표면에 가까운 구조적(conformation) 전환을 제공함으로써, 인슐린 결합 및 분해에 대한 글루코스 조절을 가능하게 한다. 본 발명의 핵심은 B 사슬의 변형에 따른 특정 분자의 실시예에 기반하지 않는데, 왜냐하면 PBA(및 플루오로-페닐보론산으로서의 PBA 유도체)가 (a) 다양한 당류(단당류 아단위의 개수 및 조성이 상이) 및 (b) 단당류 내에서 발견되는 것들을 모방하는 디올 관능(또는 α-하이드록시 카르복시산염으로의 대안적인 PBA 결합 관능)을 나타내는 비단당류 유기 화합물의 두 디올 관능에 대한 가역적 공유 결합을 나타내기 때문이다(도 3B).

[0011] 본 발명에 따른 인슐린 유사체는 그 생물학적 가용성(피하 저장소에서의 육량체 분해의 글루코스 조절 속도에 의해 조절됨) 및/또는 생물학적 효능(인슐린 수용체에 대한 글루코스 의존성 친화력에 의해 조절됨)이 저혈당 상태일 때보다는 고혈당 상태일 때 더 강할 수 있고, 인슐린 대체 요법의 일반적인 안전성, 효능, 단순성 및 편리성을 향상시킬 수 있다. 이러한 인슐린 유사체 제제는 다수의 장치(인슐린 유리병(vial), 인슐린 펜 및 인슐린 펌프 등)에 적합할 수 있고, 당업계에 공지된 인슐린 분자의 변형과 통합되어 신속, 중기 또는 장기적인 인슐린 작용을 부여할 수 있다. 또한, B 사슬의 C 말단과 A 사슬의 N 말단 사이에서 조작된 인슐린 분자에 있어서 본 발명에 따른 글루코스 조절된 구조(conformation) 전환은 다른 글루코스 반응 기술(예컨대, 폐쇄 루프 시스템 또는 글루코스 반응성 중합체)과 조합적으로 사용하여 통합된 특성을 최적화할 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 제품은 서구 사회 및 개발도상국 모두에서 제1형 또는 제2형 당뇨병 환자에게 유익할 것으로 생각된다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0012] 따라서, 본 발명의 일 측면은 인슐린 수용체에 대한 글루코스 반응성 결합 및 그에 따른 글루코스 조절된 생체활성을 제공하는 것을 특징으로 하는 인슐린 유사체를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0013] 본 발명에 따른 상기 유사체는 두 가지 본질적인 요소를 포함한다. 제1 요소는 A1 위치의 글리신(Gly^{A1})의 α-아미노기에서의 페닐보론산 유도체(스페이서 요소 포함)이거나, 위치 A1에서 내성이 좋은 아미노산 치환체인 D-리신($D\text{-}Lys^{A1}$)의 ε-아미노기나 A4 위치의 치환체로서의 L-리신($L\text{-}Lys^{A4}$)의 ε-아미노기 중에서 임의 선택된 하나이다. 대안적으로, 이러한 변형은 A 사슬의 N 말단 근처, 즉, A 사슬의 처음 5개의 아미노산 내에서 발견될 수 있다. 페닐보론산 모이어티(도 4)는 그 방향족 고리 내에서 불소, 염소, 브롬 및 요오드와 같은 할로겐 원자의 수소 원자의 치환에 의해 변형될 수 있다(도 5); 상기 스페이서 요소는 1~16개의 탄소 원자를 갖는 선형 아실 사슬을 함유할 수 있다(도 6). 제2 요소는 B 사슬 폴리펩티드의 C 말단들 중의 하나 또는 그 근처, 즉, 위치 B27, B28, B29, B30 및 B32 중의 하나 이상에 있거나, 하나의 잔기(B31) 또는 2개의 잔기(B31-B32)를 함유하는 B 사슬의 펩티드 연장에 부착된 것으로서, N결합된 또는 O결합된 단당류, 이당류 또는 올리고당류이다. 대안적으로, L-DOPA 또는 D-DOPA와 같은 비표준 디올 함유 아미노산은 B27-B30 중 임의의 위치에서 치환될 수있다. O결합된 당류의 예로는 세린 또는 트레오닌의 유도체가 있다; N결합된 당류의 예로는 아스파라긴 또는 글루타민

의 유도체가 있다. 단당류의 예로는 글루코스, 글루코오스, 마노스 및 N-아세틸-갈락토스가 있다. 본 발명에 따른 인슐린 유사체의 전반적인 구조는 도 3A 및 3B에 개략적인 형태로 도시되어 있다. 이 도식에서 A 사슬에 부착된 일반적인 단량체 글루코스 결합 요소는 B 사슬에 부착된 동족 글루코스 또는 당류 모이어티가 필요할 것으로 예상될 수 있는 반면(도 3A), 페닐보론산으로서의 단량체 글루코스 결합 요소의 특정 분자의 실시예는, 당류인지 비당류인지에 따라, 상기 필요성을 디올 함유 모이어티들(또는 대안적인 PBA 결합 관능으로서 α- 하이드록시 카르복실레이트기를 함유하는 부가물들)의 광범위한 분자적 다양성으로 해소한다(도 3B). 따라서, 상기 실시예에서, N-결합된 또는 O-결합된 당류는 단당류의 디올 관능을 모방하는 디올 관능을 함유하는 유사한 분자량의 임의의 유기 모이어티로 치환될 수 있으며, 따라서 가역적인 PBA-결합 활성(또는 대안적인 PBA-결합 관능의 기능을 하는 α-하이드록시 카르복실레이트기를 함유하는 부가물)을 부여한다. 이러한 비당류 디올 함유 유기 화합물은 산, 알코올, 및 방향족과 비방향족 지지체(scaffold)를 함유하는 티올 시약을 포함하는 광범위한 화학물을 포괄한다; α-하이드록실 카르복실레이트기를 함유하는 부가물은 대안적인 PBA-결합 관능을 제공할 수 있다. 이러한 디올 함유 및 알파-하이드록시 카복실레이트 함유 부가물은 일반적으로 80 내지 600 달스톤 사이의 분자량을 나타내고 일반적으로 3 내지 30 개의 탄소 원자를 함유한다. 또한, B 사슬에 부착하기 위한 간편한 방식에는 상기와 같은 N-결합 및 O-결합된 당류 유도체 이외에도 광범위한 연결을 포괄한다; 이러한 추가적인 부착 방식에는 (i) 리신, 오르니틴, 디아미노부티르산, 디아미노프로피온산(주쇄 키랄성 L 또는 D를 구비) 및 (ii) 시스테인 또는 호모시스테인의 측쇄 티올 관능(주쇄 키랄성 L 또는 D를 구비)을 포함한다.

[0014] 본 발명에 따른 상기 유사체는 피하 저장소에서 표면 렉틴에 인슐린 유사체의 글루코스 반응 결합을 제공하기 위한 메카니즘으로서 잔기 B1에 (스페이서 성분과 함께) 부착된 부가적인 페닐보론산기(또는 그 할로겐 유도체)를 선택적으로 함유할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 유사체는 신속한 작용을 제공하기 위해 당업계에 공지된 치환체(인슐린 아스파르트(Novolog®의 활성 성분)에서 발견되는 치환체인 Asp^{B28};인슐린 리스프로(Humalog®의 활성 성분)에서 발견되는 쌍방향 치환체인 [Lys^{B28},Pro^{B29}];및 Glu^{B29}또는 [Lys^{B3},Glu^{B29}]결합체인 인슐린 글루리신(Apridra®의 활성 성분) 또는 인슐린 육량체의 가속된 분해와 관련된 위치 B24의 변형(시클로헥사닐알라닌에 의하거나 방향족 고리 내에 단일 할로겐 치환을 함유하는 페닐알라닌 유도체에 의한 Phe^{B24}의 치환 등)을 선택적으로 함유할 수 있다. 대안적으로, 본 발명에 따른 유사체는 지연된 작용을 제공하기 위해 당업계에 공지된 변형을 선택적으로 포함할 수 있다. 예컨대, 인슐린 디터머(Levemir®의 활성 성분) 및 인슐린 디글루덱(degludec. Tresiba®의 활성 성분)으로 각각 예시되는 아실 사슬 또는 아실-글루탐산 부가물에 의한 Lys^{B29}의 ε-아미노기의 변형이 있다. 또는, 인슐린 글라진(Lantus®의 활성 성분)의 Arg^{B31}-Arg^{B32}연장에 의해 예시되며 등전점(pI)을 거의 중성으로 변경하도록 고안된 염기성 아미노산 치환 또는 염기성 사슬 연장을 함유할 수 있다. 또한, 상기와 같이 변경된 pI를 나타내기 위해 고안된 본 발명에 따른 유사체는 글리신, 알라닌 또는 세린과 같은 Asn^{A21}의 치환을 포함할 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 유사체는 상기 인슐린 수용체에 대한 증가된 친화도 및/또는 증가된 열역학적 안정성과 관련된 Thr^{A8}의 非-베타-분지형 아미노산 치환을 선택적으로 포함할 수 있는데, 수용체 결합 친화력 및/또는 열역학적 안정성에 있어서 상기 두 가지 주요한 설계 요소(A 사슬의 N 말단 또는 그 근처의 페닐보론산 유도체 및 B 사슬의 C 말단 또는 그 근처의 하나 이상의 당류 유도체)의 유해한 효과를 완화시키기 위해 도입될 수 있기 때문이다. 당업계에 공지된 A8 치환의 예로는 His^{A8},Lys^{A8},Arg^{A8}및 Glu^{A8}이 있다.

[0015] 본 발명에 따라 가능한 두 가지 글루코스 반응 메커니즘(인슐린 육량체의 글루코스 의존적 분해 속도 및 인슐린 수용체에 대한 글루코스 의존적 결합 강도)은 일부 분자 실시예에서 공존하는 반면에 다른 실시예에서는 어느 한 가지 특성만 나타날 수 있다. 또 다른 실시예에서는 두 특성이 상이한 정도로 결합되어 나타날 수 있다. 피하 저장소에서 인슐린 육량체의 글루코스 의존적 분해 속도가 저혈당 상태에서 호르몬의 생체 효용을 감소시키지만, 글루코스 의존적 수용체 결합은 저혈당 상태에서 이미 혈류의 호르몬 효능을 감소시키므로, 어느 메커니즘이든 환자에게 이득을 가져다 줄 것으로 기대된다. 상기와 같은 두 가지 방어적 이득은 각각 독립적이거나 시너지 작용을 발휘하여 저혈당 증상의 위험 또는 중증도를 감소시킬 수 있다.

[0016] 또한, 본 발명의 일 측면에 따르면, A 사슬의 N 말단 또는 그 근처에서 단량체 글루코스 결합 요소에 의해 변형되고 B 사슬의 C 말단 또는 그 근처에서 디올 함유 모이어티에 의해 변형된 인슐린 유사체의 제조에 대해 혁신적인 제조 방법이 개발 및 입증되었다. 후자는 대안적인 PBA 결합 관능으로서 α-하이드록시 카르복실레이트기를 함유할 수도 있다. 이러한 제조 방법은 미리 변형된 인슐린 단편 및 미리 변형된 합성 펩티드의 트립신 매개

된 반(semi)합성을 이용함으로써, 최종 생성물의 정제를 단순화한다. 상기 인슐린 단편은 인슐린 또는 단일 사슬 인슐린 전구체의 des-펜타펩티드[B23-B30] 단편이다. 상기 합성 펩티드는 N 말단 글리신을 함유하고 그 길이는 6, 7, 8, 9 또는 10 개의 잔기 길이이다. 상기 펩티드는 고상 합성 과정에서 직접적으로 또는 후속 합성 변형의 결과로서 N- 또는 O- 연합된 당류를 포함할 수 있다(도 3A). 후자와 같은 방식은 도 3B에 도시된 바와 같이 페닐보론산에 의해 변형된 A 사슬과 함께 조합되어 사용되는 디올 함유 모이어티에 의한 염기성 측쇄 또는 티올 측쇄의 유도체 화로 용이하게 연장된다.

[0017] 본 발명에 따른 인슐린 유사체는 4.0 내지 6.0 범위의 등전점(pI)을 나타낼 수 있고, 따라서 6.8 내지 7.8의 pH 범위에서 약학적 제제에 적용할 수 있다; 대안적으로, 본 발명의 유사체는 6.8 내지 7.8 범위의 등전점을 나타낼 수 있고, 따라서 4.0 내지 4.2의 pH 범위에서 약학적 제제에 적용할 수 있다. 후자의 조건은 당업계에 공지된 것으로서, 지연된 작용의 메카니즘으로서 피하 저장소에서 pI가 변경된 인슐린 유사체의 등전점 침전을 유도할 수 있다. 상기와 같은 pI가 변경된 인슐린 유사체의 예로는 인슐린 글라진을 들 수 있는데, B 사슬(Arg^{B31}-Arg^{B32})의 염기성 2-잔기 연장은 pI를 중성에 가깝게 변경시킴으로써, 피하 저장소로부터 약동학적 흡수를 연장시킬 수 있다. 일반적으로, 인슐린 유사체의 pI는 염기 또는 산성 사슬 연장을 첨가하거나, 중성 또는 산성 잔기에 의해 염기성 잔기를 치환하거나, 중성 또는 염기성 잔기에 의해 산성 잔기를 치환함으로써 변형될 수 있다. 이러한 상황에서 본 발명의 발명자들은 산성 잔기를 아스파르트산 및 글루탐산으로 한정하고, 염기성 잔기를 아르기닌 및 리신, 또는 경우에 따라 히스티딘으로 한정한다. 본 발명자들은 중성 pH에서 측쇄의 순전하와 관련하여 "중성" 잔기를 더 한정한다.

[0018] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 인슐린 수용체에 대한 인슐린 유사체의 절대적 체외 친화도(이형 IR-A 및 IR-B)는 야생형 인간 인슐린에 비해 5 % 내지 100 %의 범위에 있으며, 호르몬 수용체 복합체에서 연장된 체류 시간을 나타내지 않는다; 상기와 같은 연장된 체류 시간은 포유류의 발암 위험 증가 또는 배양 중의 암세포주의 보다 빠른 성장과 관련이 있는 것으로 생각된다. 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, 제1형 인슐린 유사 성장 인자 수용체(IGF-1R)에 대한 인슐린 유사체의 절대적 체외 친화도가 야생형 인간 인슐린에 비해 5 % 내지 100 %의 범위에 있으며, 호르몬/IGF-1R 복합체에서 연장된 체류 시간을 나타내지는 않으며, 야생형 인간 인슐린에 의해 매개된 유사분열촉진을 초과하여 IGF-1R 관련 유사분열촉진을 매개하지도 않는다.

[0019] 본 발명의 인슐린 유사체는 A 사슬 및 B 사슬에서의 변형의 신규한 조합을 포함하는 2개의 폴리펩티드 사슬로 이루어져, 글루코스 또는 기타 외인성 당류가 없는 상태에서 상기 유사체가 B 사슬의 C 말단 또는 그 근처에서의 (a) 하나 이상의 당류 모이어티 또는 (b) 하나 이상의 비-단당류 디올 함유 모이어티와 A 사슬의 N 말단 또는 그 근처에서의 (선택적으로 페닐보론산으로부터 유래된) 단량체 글루코스 결합 모이어티 사이에서 가역적 상호 작용(공유 결합 또는 비공유 결합)을 나타낸다. 그 예로는 글루코스, 만노스, 또는 N-아세틸-갈락토스에 의한 Thr^{B27} 및/또는 Thr^{B30}의 O-결합된 유도체를 들 수 있으며, 또는 세린에 의한 Thr^{B27} 및/또는 Thr^{B30}의 치환(들)을 함유하는 인슐린 유사체의 유사한 O-결합 유도체를 들 수 있다. 단당류 변형의 추가적인 예로는 위치 B26, B27, B28, B29, B30에서 또는 B 사슬(B31 또는 B31-B32)의 C 말단 연장 내에서 두 개의 잔기 길이까지 치환된 경우의 Asn 또는 Gin의 N-결합된 변형을 들 수 있다. 연장된 B 사슬의 C 말단의 사용은 B31 및/또는 B32에서 산성 잔기의 사용을 가능하게 하여 용해도를 증가시키고 유사 분열촉진성 IGF-1R 수용체에 대한 교차 결합을 손상시킨다. 또한, B30에서 당화된 잔기를 함유하는 (트립신 매개된 반 합성에서 사용된 바와 같은) B 사슬 단편의 고상 펩티드 합성이 상기 연장된 펩티드에 의해 용이하게 되어, 수지 결합 된 C 말단 잔기가 당화되지 않는다.

[0020] 본 발명의 또 다른 측면에 따르면, N-결합된 또는 O-결합된 당류 모이어티는, PBA 또는 A 사슬의 N 말단 또는 그 근처에 부착된 PBA 유도체에 가역적인 결합을 제공하면서, 디올 관능(또는 대안적인 PBA-결합 관능으로 작용하는 α-하이드록시 카복실레이트기)를 함유하는 유사한 분자량의 임의의 유기 모이어티에 의하여 대체될 수 있다 일부 실시예들에서, 상기 디올은 3 내지 26 개의 탄소 길이일 수 있다. 그리고/또는, 상기 디올의 분자량은 90 내지 570일 수 있다. 상기 비당류 디올 함유 요소의 예에는 유기산(글루콘산, 트레온산, 글리세린산, 갈락톤산 및 디하이드록시신남산 등), 티올 함유 화합물(1-티오글리세롤 및 1,2,3-부탄에트리올4-메르캅토 등), 및 아미노 화합물((±)-3-아미노-1,2-프로판디올, (±)-3-아미노-1,2-프로판디올, 및 글루코사민 등)을 들 수 있다. 또한, 티올 함유 모이어티 1-티오-ß-D-글루코스는 적절하게 변형된 B 사슬 내의 시스테인 또는 호모시스테인에 대한 이황화물 결합에 사용될 수 있다. 상업적 공급원으로부터 용이하게 수득되고 원칙적으로 합성 펩티드에 부착하기 쉬운 부가적인 시약들이 표 1에 제시되어 있다; 상기 부착은 적절한 "화학 손잡이"를 제공하기 위해 화합물 또는 그 유도체의 활성화를 필요로 할 수 있다. 이 표는 모든 것을 포괄하는 것은 아니며 본 발명의 범위 내에서 의도된 다양한 분자 물질(디올 함유 화합물 또는 α-하이드록시 카르복실레이트기를 함유하는 것)에 대

한 예시적인 개요를 제공하기 위한 것이다.

표 1

[0021]

1,3-벤젠디메탄올	(3S,4R)-4-메틸-5-헥센-1,3-디올
만니톨	(3S,4R)-4-메틸-5-헥센-2,3-디올1,3
과당	부탄디올
소르비톨	에리스리톨
트리스 염기	살리실히드록삼산
Fmoc-3,4-디히드록시-L-페닐알라닌	카테콜
2-(아세톡시메틸)-4-요오도부틸아세테이트	cis-1,2-사이클로펜탄디올
1(1R,2S,3R,5R)-3-아미노-5-(하이드록시메틸)-1,2-사이클로펜탄디올	사이클로헥산-1,2-디올
하이드로클로라이드	1,2-디하이드록시벤젠
2-(N-Fmoc-4-아미노부틸)-1,3-프로판디올	디하이드록시페닐에틸렌 글리콜
2-(4-아미노 부틸)-1,3-프로판디올	2,2,4,4-테트라메틸-1,3-사이클로부탄디올
3-아미노-1-,2-프로판디올	부틸보론산
2-아미노프로판-1,3-디올	이소소르바이드
3-메르캅토프로판-1,2-디올	N,N-디메틸스핑고신
2-아미노-4-펜탄-1,3-디올	스핑고신(2-아미노-4-옥사데센-1,3-디올)
N-아세틸-D-갈락토사민	타르타르산
N-아세틸퀴노보자민	구아이페네신
알로푸밀리오톡신 267A	5β-안드로스탄-3α,17α-디올-11-one-17β-카르복실산
아미노시킴산	3-(β-D-글루쿠로니드)
아토르바스타틴	(1S-cis)-3-브로모-3,5-사이클로헥사디엔-1,2-디올
β-D-갈락토피라노실아민	
카페스톨	
글라페닌	
글리세르알데히드	
글리세린산	
글리세롤-3-인산	
글리세롤 모노스테아레이트	
브롬화수소산	
1,2,3,4-테트라하이드로 이소퀴놀린-6,7-디올	
D-스핑고신	
사이클로헥산-1,2-디올	
시토신 글리콜	
4,5-디하이드록시-2,3-펜탄디온	
디하이드록시페닐에틸렌 글리콜	
디티오에리스리톨	
디티오트레이톨	
드롭로피진	
다이필린	
플라바글린 FL3	
플로타페닌	

[0022] 디올 또는 α-하이드록시 카르복실레이트 함유 전구체

발명의 효과

[0023] 본 발명자는 이론적으로 제한되는 것을 원하지 않지만, 상기와 같은 두 가지 설계 요소가 외인성 글루코스가 없는 경우의 가역적 상호 작용을 형성함으로써 호르몬의 구조(structure)가 폐쇄되고 덜 활성화된 구조(conformation)로 안정화될 것으로 예상된다. 화학적 결속 또는 짧은 간섭 펩티드에 의한(또는, 심지어 Gly^{A1}과 잔기 B28, B29, B30 중의 하나 사이의 직접적인 펩티드 결합에 의한) 잔기 B30 및 A1 사이의 거리의 폐쇄는 인

슐린 수용체에 대한 결합된 또는 단일 사슬의 인슐린 유사체의 친화도에 현저한 손실을 초래한다는 것이 당 업계에 공지되어 있다. 최근, 결합된 호르몬에 있어서 인슐린의 알파-나선형 코어의 B24-B27 분절이 부분적으로 분리되는 것을 보임에 따라, 인슐린 수용체의 엑토도메인의 "마이크로 수용체" 단편에 결합된 인슐린의 공(共)결정 구조로써 상기와 같은 발견을 합리적으로 뒷받침했다. 잔기 Gly^{A1} 및 Thi^{30}의 본래의 근접성이 중앙의 B-사슬 알파-나선(잔기 B9-B19)에 대한 B-사슬 C-말단 베타-가닥(잔기 B24-B28)의 위치를 반영함으로써, 인슐린 단량체의 폐쇄 형태가 이량체화 및 그에 따른 육량체 집합체에 대해 더 적합하게 된다는 것은 당업계에 잘 알려져 있다. 이론적으로 제한되지는 않지만, A 사슬의 N 말단 또는 그 근처에 부착된 PBA 요소 및 B 사슬의 C 말단 또는 그 근처에 부착된 보족성 PBA 결합 요소에 의한 상기 폐쇄 구조(structure)의 안정성은 이량체화를 우선하고 피하 저장소에서의 인슐린 육량체 집합체의 비율을 지연시킬 것으로 본 발명자는 예상한다. 또한, 이론에 의해 제한되지는 않지만, A 사슬의 N 말단 또는 그 근처의 페닐보론산 모이어티에 대한 외인성 글루코스 분자(또는 다른 유리 당류)의 결합을 통해, 후자가 B 사슬의 C 말단 또는 그 근처의 O- 또는 N-결합된 당류 모이어티와 상호작용을 하는 것을 방지함으로써, B24-B27 분절의 부분적인 분리를 용이하게 하여, (a) 피하 저장소에서의 인슐린 육량체 및 이량체의 해리 및/또는 (b) 혈류 및 표적 조직에서 인슐린 수용체에 대한 변형된 호르몬의 결합을 가능하게 할 것이라고 본 발명자는 예상한다.

도면의 간단한 설명

[0024] 도 1A는 측면 이염기성 절단 부위(채워진 원) 및 C-펩티드(흰 원)로 도시된 A-사슬과 B-사슬 및 연결 영역을 포함하는 인간 프로인슐린(서열번호: 1)의 염기서열을 나타내는 개략도이다.

도 1B는 인슐린 유사 모이어티 및 무질서한 연결 펩티드(점선)로 이루어진 프로인슐린의 구조적인 모형이다.

도 1C는 A-사슬(서열번호: 2) 및 B-사슬(서열번호: 3)을 포함하고 B-사슬에서 잔기 B27 및 B30의 위치를 표시하는 인간 인슐린의 서열을 나타내는 개략도이다.

도 2는 펩티드 결합이 Lys^{B29}와 Gly^{A1}을 연결하고, Thr^{B30}이 결실된 미니-프로인슐린(단일 사슬 인슐린)의 실린더 모델을 나타내는 도면이다. 이 유사체는 검출 가능한 활성이 없음이 당업계에 알려져 있다.

도 3A는 본 발명에 관한 인슐린 분자(상부) 및 변형의 개략도이다. A 사슬은 상대적으로 짧은 수평 원통을 이용하여, B 사슬은 상대적으로 긴 수평 원통을 이용하여 나타내고 있다. 야생형 인슐린의 표준 이황화물 가교는 검은 선으로 표시된다(우측 하단 상자 참조). A 사슬은 N 말단 또는 그 근처의 단량체 글루코스 결합 모이어티 및 스페이서(적색 컵 및 검은 파선. 좌측 하단 상자 참조)에 의해, 또는 B 사슬의 알파-아미노기에서 변형된다(괄호 안의 적색 별표). B 사슬은 세린 또는 트레오닌(O-결합된 당류)의 측쇄 산소 원자에 연결되거나 아스파라긴 또는 글루타민(N-결합된 당류)의 측쇄 질소 원자 연결될 수 있는 C 말단(녹색 삼각형) 또는 그 근처에서 하나 이상의 당류 부가물에 의해 변형된다. 상기 당류는 단당류, 이당류 또는 올리고당일 수 있다.

도 3B는 도 3A에 도시된 방식의 변형을 개략적으로 나타내고 있다. 단량체 글루코스 결합 요소가 페닐보론산(선택적으로 할로겐화를 포함)인 반면, B 사슬의 정합 요소는 디올 함유 모이어티일 수있는데, 당류이거나 비당류 디올 함유 화합물의 다양하고 광범위한 분자로부터 유래된 여부와 상관없으며, 방향족이거나 비방향족인 것과 상관없고, 아미노기, 카르복실레이트기, 또는 티올기를 함유함으로써 합성 B-사슬 유래된 펩티드에서의 아미노산 측쇄에 부착이 용이하게 하는 여부와 상관없다.

도 4는 페닐보론산의 분자 구조를 도시한 도면이다.

도 5는 방향족 고리 내의 수소 원자가 보론산 모이어티에 대해 오르토 위치에서 불소 원자로 치환된 경우의 할로겐 변형된 페닐보론산의 분자 구조를 나타낸 것이다. 페닐 고리의 할로겐 변형은 보론산기의 pK_a를 조절하는 것으로 당업계에 알려져 있다.

도 6은 페닐보론산 모이어티가 당류 내에서 어떻게 디올에 결합하는지를 도시하고 있는 반응 모델의 개략도이다. 유사한 가역적 반응 모델은 디올 또는 트리올 관능을 함유하는 광범위한 부류의 비단당류 화학 물질에 적용된다.

도 7은 펩티드 결합(중간의 화살표)으로서, 단일 카르보닐기를 통해 PBA 모이어티(좌측)와 Gly^{A1}(우측) 사이에 가장 단순한 결합을 형성하고 있는 분자 구조를 나타내는 도면이다. 페닐기의 선택적인 플루오로 유도체가 표시되어 있다. 이러한 화학적 내용은 본 발명자들의 실시예에 따른 예시적인 연구에 사용되었다. 본 발명자들은

PBA 모이어티가 1 내지 12 개의 탄소를 갖는 임의의 아실 링커에 의해 잔기 A1로부터 분리될 수 있을 것이라고 본다.

도 8A는 EDTA 코발트-격리 분석을 통해 조사된 바에 따라, 25 ℃ 및 pH 7.4에서 글루코스(25mM)의 존재 또는 부존재 상태에서의 야생형 인간 인슐린의 해리 속도에 관한 대조 연구 결과를 나타내는 그래프이다. EDTA를 과량으로 첨가하였을 때 R_6상태에 특정된 d-d 광학 대역의 감쇠 속도에서는 차이가 없었다.

도 8B는 본 발명의 대표 유사체에서 육량체 분해의 글루코스 조절된 해리 속도를 나타내는 그래프이다(Gly^{A1}이 플루오로-페닐보론산(서열 번호 51) 및 O-결합된 만노실 변형을 포함하는 Thr^{B30}에 의해 유도되었음; 표 2). 상기 유사체는 인슐린 리스프로(Humalog)의 Lys^{B28}-Pro^{B29}치환 쌍 및 B 사슬의 Glu^{B31}-Glu^{B32}C말단 연장(서열 번호 16)을 함유하였다.

도 8C는 잔기 A1(또는 다른 곳)의 PBA 변형이 결핍된 유사체에 관한 대조군 코발트-격리 분석의 결과를 도시한 그래프로서, Thr^{B30}에 부착된 O-결합된 만노스를 포함하여 패널 B에 기재된 유사체와 동일하다. 본 대조군 유사체는 25 mM 글루코스가 존재 또는 부존재하는 조건하에 해리 속도에서 차이를 거의 또는 전혀 나타내지 않고 있다; 곡선간의 미세한 차이는 실험적 오류일 수도 있고, 고혈당 상태(즉, 당뇨병 환자에게 유익한 것과는 상반된 상태)에서 분해가 다소 바람직하지 않게 지연된 것을 나타내는 것일 수도 있다.

도 9는 당뇨병을 가진 쥐에서 정맥 볼러스 주사시 선택된 인슐린 유사체의 효능력에 관한 쥐실험 연구의 결과를 한 쌍의 그래프를 통해 나타내고 있다. 상기 데이터는 본 발명에 따른 인슐린 유사체(다이아몬드; N=6. C 말단 확장 Glu^{B31}및 Glu^{B32}와 함께 Lys^{B28}및 Pro^{B29}를 함유하는 변이체 B 사슬에서 Gly^{A1}의 α-아미노기에 부착된 플루오로-PBA와 조합한 만노스-Thr^{B30}에 관한 연구)의 생체학적 활성과 A1(동그라미; N=5) 및 인슐린 리스프로(N=5인 사각형; 인슐린 리스프로는 Humalog의 활성 성분)에서 PBA 변형이 결핍된 유사한 유사체간의 비교를 제공하고 있다. 패널 A에는 절대 혈당 농도(수직축은 mg/dl)와 관련하여 데이터가 도시되고, 패널 B에는 혈당 농도의 초기값(1.0으로 한정)과 관련하여 데이터가 도시되어 있다. 본 연구는 300 g 체중당 20 ㎍ 단백질에 해당하는 용량으로 스트렙토조토신으로 당뇨병을 일으킨 수컷 루이스 쥐에서 수행되었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0025] 본 발명은 혈류 및 표적 조직에서 인슐린 수용체에 대한 피하 저장소 및/또는 글루코스 의존성 결합에서의 글루코스 의존적 인슐린 육량체 분해 속도를 통해 향상된 생체 내 혈당 조절을 제공하는 인슐린 유사체에 관한 것이다. 표 2에 열거된 바와 같이 6개의 신규한 인슐린 유사체가 제조되었다. 각각에 대하여 플루오로-페닐보론산을 글루코스 감지 요소로 사용하였다. 플루오로-PBA 모이어티 및 Gly^{A1}의 α-아미노기 사이의 화학적 연결은 도 7에 도시되어 있다; 상기 상응하는 연결은 Phe^{B1}의 α-아미노기에서 플루오로-PBA 부가물과 함께 동시에 유사체에 사용되었다(미도시).

[0026] 2개의 유사체는 하나의 상기 부가물(A 사슬의 α-아미노기에; 표 2A)을 포함하고, 3개의 유사체는 2개의 상기 부가물(A 사슬 및 B 사슬 양측의 α-아미노기에; 표 2B)을 함유한다. 활성 FPA 시약에 의하여 인슐린 단편을 유도체화하기 위한 프로토콜은 아래에 나타나있다. 이러한 유사체는 인간 인슐린에서 자연적으로 발생하는 트레오닌(잔기 B27 및/또는 B30)의 위치에 O-결합된 α-D-만노피라노시드(만노스-O^{β}-Thr)또는 α-D-글루코피 라노시드(글루코스-O^{β}-Thr)를 함유하였다. 예측된 분자량은 질량 분석법에 의해 각 사례별로 확인되었다. 도 8에 도시된 바와 같이, 만노즈 함유 인슐린 유사체는 WT 인슐린의 것과 유사한 코발트 R_6육량체 결합 특성을 보였다(분해 동역학은 상이함); 도 9에 도시된 바와 같이, 상기 만노스 함유 인슐린 유사체는 스트렙토조토신에 의해 당뇨병을 일으킨 수컷 루이스 쥐에게 정맥 볼러스(bolus) 주사한 경우, Humalog®(Eli Lilly)의 활성 성분인 인슐린 리스프로와 비슷한 생물학적 활성을 나타냈다.

표 2

[0027]

A. 단일 PBA 변형 (Gly^{A1})	B. 이중 PBA 변형(Gly^{A1} 및 Phe^{B1})
Mannose-Thr^{B30}-Lys^{B28}-Pro^{B29}-Glu^{B31}-Glu^{B32} Glucose-Thr^{B27}-Glucose-Thr^{B27}-Lys^{B28}-Pro^{B29}-Glu^{B31}-Glu^{B32}	Mannose-Thr^{B30}-Lys^{B28}-Pro^{B29}-Glu^{B31}-Glu^{B32} Mannose-Thr^{B30}-Orn^{B29}-Glu^{B31}-Glu^{B32} Glucose-Thr^{B27}-Glucose-Thr^{B27}-Lys^{B28}-Pro^{B29}-Glu^{B31}-Glu^{B32}

[0028] 인슐린 유사체

[0029] 본 발명의 대표 유사체가 인슐린 수용체에 대한 높은 친화도를 가짐을 설명하기 위해, 상기 친화도를 경쟁적 치환 섬광 근접 분석에 의해 측정하였다(아래). 표준 대조 시료가 Orn^{B29}-인슐린에 의해 제공되었으며, 그 활성은 야생형 인슐린의 활성과 구별되지 않았다. [Glu, Glu]-연장된 리스프로 B 사슬(즉, Lys^{B28} 및 Pro^{B29} 치환되고 Glu^{B31} 및 Glu^{B32} C말단 연장된) 환경에서 O-결합된 만노스 Thr^{B30}을 함유하는 인슐린 유사체의 친화도는 (i) Gly^{A1}의 α-아미노기에 부착된 플루오로-PBA 부가물의 존재하에서 (Orn^{B29}-인슐린에 비하여) 50 % 내지 75 % 범위 내에서 관찰되었고, (ii) Gly^{A1} 및 Phe^{B1}의 양측 α-아미노기에 부착된 플루오로-PBA 부가물의 존재하에서 (Orn^{B29}-인슐린에 비하여) 10 % 내지 30 % 범위에서 관찰되었다. 본 발명자들은 당업계에 공지된 바와 같이, 상기와 같은 완만한 친화도 감소가 A1 및 B1 부가물들의 바람직하지 않은 영향에 의한 것으로 본다. 리스프로 치환(Lys^{B28} 및 Pro^{B29})및 C 말단 연장(Glu^{B31} 및 Glu^{B32})이 분리된 인슐린 수용체에 대한 다양한 인슐린 유사체의 친화력에 무시 가능한 정도의 영향을 갖는다는 것을 본 발명자들은 개시한 바 있다; 마찬가지로, O-결합된 만노실 모이어티에 의한 Thr^{B30} 변형도 용인되기 쉽다.

[0030] 페놀이 R_6 육량체로 존재 하는 상태에서 코발트(Co^{2+})치환된 인슐린 육량체의 가시적 흡수 스펙트럼을 수득하는 분광학 분석을 이용하여 글루코스 반응 분해 속도를 조사하였다. 상기 분석("제제 상태에서 단량체 인슐린 유사체의 자가 결합 특성", Richard, J. P. 외. Pharm. Res. 15: 1434-41, 1998)은, 청색 흡수 대역을 발생시키는 금속 이온의 R-상태-특이적 사면체 배위를 이용한다.

[0031] 상기 대역은 코발트 이온의 채워지지 않은 d-외각 전자에서 발생하며, 사면체 배위 환경의 특수한 특성이다. 에틸렌-디아민-디아민-테트라-아세트산(EDTA) 착화제를 과량으로 첨가하면 (무색 팔면체 복합체에서) 금속 이온의 적극적인 격리를 유도하게 되어, 육량체 분해의 동특성에 대한 신속하고 간편하게 조사할 수 있게 된다. 야생형 인슐린은 25 mM 농도 및 글루코스가 없는 상태에서 R-상태 특이적 d-d 신호에 따른 동일한 손실 속도를 나타낸다(도 8A). 반면에, 표 2A에 열거된 유사체(만노스-Thr^{B30}-Lys^{B28}-Pro^{B29}-Glu^{B31}-Glu^{B32})의 분해는 고혈당 상태에서 현저한 가속을 나타낸다(도 8B). 이러한 글루코스 조절된 분해는 B 사슬에 만노스 부가물이 존재하되 A 사슬의 N 말단에 PBA 부가물은 부존재하는 경우에는 발생하지 않는다(도 8C).

[0032] 본 발명의 특징에 따르면, 청구된 인슐린 유사체는 혈당 농도가 정상 범위 또는 그 이하일 때 야생형 인슐린에 비해 인슐린 수용체에 대해 낮은 친화도를 나타낸다. 이론에 제한되지 않기를 바라지만, 상기와 같은 친화도의 감소는 B 사슬의 C 말단 또는 그 근처의 당류 변형과 N 말단 또는 그 근처에서 A 사슬에 부착된 페닐보론산 유도체 사이의 가역적 상호 작용의 결과라고 본 발명자들은 생각한다. 이러한 공유적이지만 가역적인 상호 작용은 B 사슬 C 말단 베타-가닥(잔기 B24 내지 B28)의 구조(conformation)를 "폐쇄"함으로써 인슐린 수용체에 결합하는 것을 방해하며, 이는 인슐린 분자의 알파-나선형 코어로부터 상기 베타-가닥을 부분적으로 분리하는 것이 필요하다. 본 발명의 특징에 따르면, A-사슬 결합된 페닐보론산 유도체를 B-사슬 결합된 당류 모이어티 또는 용액 중의 과량의 외인성 글루코스에 의한 모이어티로부터 경쟁적 치환되어 혈당 농도가 정상 범위를 초과하는 경우에는, 청구된 인슐린 유사체의 혈당 효능이 야생형 인슐린의 혈당 효능과 유사한 수준으로 회복된다. 글루코스가 5% 내지 100 % 범위에서 200 mg/ml를 초과하는 농도를 갖는 상태에서 수용체 결합 친화도는 당뇨병이 있는 동물에 대하여 본래 또는 거의 본래의 혈당 효능을 부여하기에 충분할 것이라고 본 발명자들은 예상한다. 또한,

본 발명의 또 다른 특징에 따르면, 이러한 변형들은 실온 이상에서 세동을 야기하고 인슐린의 유사분열촉진을 저하시키는 인슐린의 경향성을 감소시키며, 암 위험 및 암 성장의 관점에서 바람직하지 않은 뚜렷한 신호전달 경로를 감소시킨다.

[0033] A 사슬이 N 말단 또는 그 근처에서 페닐보론산 유도체에 의해 변형되고, B 사슬의 C 말단 또는 그 근처의 하나 이상의 아미노산 측쇄가 O-결합 또는 N-결합된 단당류, 이당류, 올리고당류에 의해 변형되기만 한다면, 인슐린 유사체는 돼지, 소, 말 및 개 인슐린과 같은 동물성 인슐린으로부터 유래된 A 및 B 사슬 염기서열을 이용하여 무한한 방법으로 제조될 수 있다. 인간 인슐린 또는 동물성 인슐린으로부터 유도된 이러한 변종 B사슬은 선택적으로 C-말단 디펩티드 연장(각각 B31 및 B32로 지정된 잔기 위치를 가짐)를 함유할 수 있으며, 이들 C-말단 연장 잔기 중 적어도 하나는 O-결합 또는 N-결합된 당류를 포함하는 변형된 아미노산이다. 그리고/또는, 본 발명의 인슐린 유사체는 잔기 B1 내지 B3의 결실을 함유할 수 있거나, B28 위치에서 프롤린이 결여되거나 B29 위치에서 글루탐산을 함유하는 변이체 B 사슬과 결합될 수 있다(예컨대, Humalog에서와 같은 [Lys^{B28},Pro^{B29}];또는, B29 위치에서 리신 또는 프롤린과 결합한 Asp^{B28}또는 Glu^{B28}).A13위치에서 류신은 트립토판에 의해 선택적으로 치환될 수 있으며, A14 위치에서 티로신은 글루탐산에 의해 선택적으로 치환될 수 있다.

[0034] 또한, 본 발명의 인슐린 유사체는 피키아 파스토리스(Pichia pastoris), 맥주효모균(Saccharomyces cerevisciae) 또는 기타 효모 발현종 또는 균주에서 효모 생합성하는 전구체 폴리펩티드의 Lys-유도된 단백질 분해 효소로부터 유래될 수 있다. 상기 균주는 조작된 tRNA 합성 효소 및 직각 방향의 강한 압력을 이용함으로써 할로겐 변형 페닐알라닌을 B24 위치에 삽입하도록 조작될 수 있다. 본 발명의 인슐린 유사체의 B-도메인은 B20 및/또는 B23 위치에 D-아미노산과 같은 비표준 치환을 선택적으로 함유할 수 있다(열역학적 안정성, 수용체 결합 친화도 및 세동에 대한 저항성을 증가시키기 위함). B24 위치에서의 상기 할로겐 변형은 Phe^{B24}의 2-고리 위치에 있을 수 있다(즉, 오르토-불소-Phe^{B24},오르토-염소-Phe^{B24}또는 오르토-브롬-Phe^{B24}.선택적으로, 상기 유사체는 Tyr^{B16}및/또는 Tyr^{B26}의 방향족 고리 내에 요오도-치환을 함유할 수 있으며(3-모노-요오도-Tyr 또는 [3,5]-디-요오도-Tyr); 이는 열역학적 안정성 및 수용체 결합 활성을 증가시키기 위한 것이다). 또한, C-도메인에서의 Thr^{B27}, Thr^{B30} 또는 하나 이상의 세린 잔기가 단당류 부가물에 의해 단독으로 또는 조합으로 변형될 수 있다는 것도 예상된다; 그 예로는, O-결합된 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드(GalNAc-O^{β}-Ser또는 GalNAc-O^{β}-Thr로 표시), O-결합된 α-D-만노피라노시드(만노스-O^{β}-Ser또는 만노스-O^{β}-Thr로 표시), 및/또는 α-D-글루코피라노시드(글루코스-O^{β}-Ser또는 글루코스-O^{β}-Thr로 표시)를 들 수 있다.

[0035] 또한, 인간 인슐린과 동물성 인슐린 간에 유사성이 있고 종래 당뇨병 환자에게 동물성 인슐린을 사용했다는 관점에서, 인슐린의 염기서열에 대한 기타 사소한 변형이 도입될 수 있으며, 특히, 이러한 치환은 "보수적인(conservative)" 것으로 간주된다. 예컨대, 아미노산의 추가적인 치환은 본 발명의 범주 내에서는 유사한 측쇄를 갖는 아미노산 그룹으로 이루어질 수 있다. 이들은 중성의 소수성 아미노산을 포함한다: Alanine(Ala 또는 A), 발린(Val 또는 V), 류신(Leu 또는 L), 이소류신(Ile 또는 I), 프롤린(Pro 또는 P), 트립토판(Trp 또는 W), 페닐알라닌(Phe 또는 F) 및 메티오닌(Met 또는 M). 마찬가지로, 중성의 극성 아미노산은 글리신(Gly 또는 G), 세린(Ser 또는 S), 트레오닌(Thr 또는 T), 티로신(Tyr 또는 Y), 시스테인(Cys 또는 C), 글루타민(Glu 또는 Q) 및 아스파라긴(Asn 또는 N) 중에서 서로 치환될 수 있다. 산성 아미노산은 아스파르트산(Asp 또는 D) 및 글루타민산(Glu 또는 E)이다. 염기성 아미노산 치환(리신(Lys 또는 K), 아르기닌(Arg 또는 R) 및 히스티딘(His 또는 H)을 포함)을 도입하는 것은 이러한 부류의 유사체의 증가된 순 음전하를 유지하기 위해서는 바람직하지 않다. 별도의 언급하지 않는 한 또는 문맥상 명백한 경우를 제외하고는 본 명세서에 언급된 아미노산은 L-아미노산으로 간주되어야 한다. 표준 아미노산은 동일한 화학 분류에 속하는 비표준 아미노산으로 대체될 수도 있다.

[0036] 본 발명의 인슐린 유사체는, 그 변이체 B 사슬이 하기 서열 번호 7 내지 50에 주어진 폴리펩티드 서열에 따르고 그 변이체 A 사슬이 서열 번호 51 내지 53에 주어진 폴리펩티드 서열을 따르는 인슐린 유사체를 포함하지만 이에 한정되는 것은 아니다. 또한, 본 발명의 변이체 B 사슬은 네오-C-말단 α-아미노기가 페닐보론산 유도체에 의해 선택적으로 변형될 수 있도록 잔기 B1의 결실, 잔기 B1 및 B2의 결실, 또는 잔기 B1 내지B3의 결실을 포함할 수 있음을 알 수 있다. 인간 프로인슐린의 아미노산 서열은 비교 목적으로서 서열 번호 1로 제공된다. 인간 A 사슬의 아미노산 서열은 비교 목적으로서 서열 번호 2로 제공된다. 당업계에 공지된 인간 B 사슬 및 B 사슬 유사체의 아미노산 서열은 비교 목적으로서 서열 번호 3 내지 6으로 제공된다.

[0037] 인간 프로인슐린의 아미노산 서열은 비교 목적으로서 서열 번호 1로 제공된다.

[0038] 서열 번호 1 (인간 프로인슐린)

[0039] Phe-Val-Asn-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Thr-Arg-Arg-Glu-Ala-Glu-Asp-Leu-Gln-Val-Gly-Gln-Val-Glu-Leu-Gly-Gly-Gly-Pro-Gly-Ala-Gly-Ser-Leu-Gln-Pro-Leu-Ala-Leu-Glu-Gly-Ser-Leu-Gln-Lys-Arg-Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn

[0040] 인간 인슐린의 A사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 2로 제공된다.

[0041] 서열 번호 2(인간 A 사슬)

[0042] Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Thr-Ser-Ile-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu- Asn-Tyr-Cys-Asn

[0043] 인간 인슐린의 B사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 3으로 제공된다.

[0044] 서열 번호 3(인간 B 사슬)

[0045] Phe-Val-Asn-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Thr

[0046] 식이요법용 인슐린 유사체 KP-인슐린의 "KP" B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 4에서 제공된 바와 같이 Pro^{B28}→Lys및 Lys^{B29}→Pro의 치환을 포함한다.

[0047] 서열 번호 4

[0048] Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Try-Thr-Lys-Pro-Thr

[0049] 식이요법용 인슐린 유사체 KP-인슐린의 연장된 "KP" B 사슬의 32-잔기 아미노산 서열은 서열 번호 5에서 제공된다.

[0050] 서열 번호 5

[0051] Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Try-Thr-Lys-Pro-Thr-Glu-Glu

[0052] B29 위치의 오르니틴을 함유하도록 변형된 변이체 B 사슬의 30-잔기 아미노산 서열은 서열 번호 6에서 제공된다.

[0053] 서열 번호 6

[0054] Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-Xaa_4-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Try-Thr-Pro-Orn-Thr

[0055] Pro^{B28}를 유지하면서 잔기 B27에서 O-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 7로 제공된다.

[0056] 서열 번호 7

[0057] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Xaa_3-Pro-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0058] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 O^{β}-Thr^{B27}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B27}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_3은 하나 이

상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 O^{β}-Thr^{B27}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B27}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_4는 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0059] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 잔기 B27에서 O-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 8로 제공된다.

[0060] 서열 번호 8

[0061] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Xaa_3-Xaa_4-Pro-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0062] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 O^{β}-Thr^{B27}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B27}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_3은 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 O^{β}-Thr^{B27}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B27}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_4는 리신, 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 알라닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0063] Pro^{B28}를 유지하면서 잔기 B27에서 N-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 9로 제공된다.

[0064] 서열 번호 9

[0065] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Xaa_3-Pro-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0066] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B27}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B27}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_3은 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B27}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B27}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_4는 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0067] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 잔기 B27에서 N-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 10으로 제공된다.

[0068] 서열 번호 10

[0069] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Xaa_3-Xaa_4-Pro-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0070] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B27}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B27}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_3은 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B27}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B27}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_4는 리신, 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 알라닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0071] Pro^{B28}를 유지하면서 B27 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 11로 제공된다.

[0072] 서열 번호 11

[0073] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Xaa_3-Pro-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0074] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_4는 아르기닌, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0075] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 위치 B27의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 12로 제공된다.

[0076] 서열 번호 12

[0077] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Xaa_3-Xaa_4-Pro-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0078] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_4는 아르기닌, 알라닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0079] Pro^{B28}를 유지하면서 B27 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 13으로 제공된다.

[0080] 서열 번호 13

[0081] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Xaa_3-Pro-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0082] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_4는 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0083] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 위치 B27의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 14로 제공된다.

[0084] 서열 번호 14

[0085] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Xaa_3-Xaa_4-Pro-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0086] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_4는 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 알라닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0087] Pro^{B28}를 유지하면서 잔기 B30에서 O-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 15로 제공된다.

[0088] 서열 번호 15

[0089] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Xaa_4-Xaa_5-Xaa_6

[0090] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 O^{β}-Thr^{B30}-연결된 또는 O^{β}-

Ser^{B30}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_4는 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 O^{β}-Thr^{B30}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B30}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0091] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 잔기 B30에서 O-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 16으로 제공된다.

[0092] 서열 번호 16

[0093] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Pro-Xaa_4-Xaa_5-Xaa_6

[0094] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 알라닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 O^{β}-Asn^{B30}-연결된 또는 O^{β}-Gln^{B30}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_4는 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 O^{β}-Asn^{B30}-연결된 또는 O^{β}-Gln^{B30}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0095] Pro^{B28}를 유지하면서 잔기 B30에서 N-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 17로 제공된다.

[0096] 서열 번호 17

[0097] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Xaa_4-Xaa_5-Xaa_6

[0098] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B30}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B30}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_4는 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B30}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B30}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0099] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 잔기 B30에서 N-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 18로 제공된다.

[0100] 서열 번호 18

[0101] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Pro-Xaa_4-Xaa_5-Xaa_6

[0102] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 알라닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B30}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B30}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_4는 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B30}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B30}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0103] Pro^{B28}를 유지하면서 B30 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 19로 제공된다.

[0104] 서열 번호 19

[0105] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Xaa_4-Xaa_5-Xaa_6

[0106] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0107] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 위치 B30의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 20으로 제공된다.

[0108] 서열 번호 20

[0109] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Pro-Xaa_4-Xaa_5-Xaa_6

[0110] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0111] Pro^{B28}를 유지하면서 B30 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 21로 제공된다.

[0112] 서열 번호 21

[0113] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Xaa_4-Xaa_5-Xaa_6

[0114] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0115] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 위치 B30의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 22로 제공된다.

[0116] 서열 번호 22

[0117] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Pro-Xaa_4-Xaa_5-Xaa_6

[0118] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0119] Pro^{B28}를 유지하면서 잔기 B31에서 O-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 23으로 제공된다.

[0120] 서열 번호 23

[0121] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0122] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 O^{β}-Thr^{B31}-연결된 또는 O^{β}-

Ser^{B31}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_4는 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 O^{β}-Thr^{B31}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B31}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser를 나타낸다.

[0123] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 잔기 B31에서 O-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 24로 제공된다.

[0124] 서열 번호 24

[0125] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_4-Pro-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0126] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 알라닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B31}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B31}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_4는 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B31}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B31}-연결된 이당류이다; 또한, Xaa_5는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser이다.

[0127] Pro^{B28}를 유지하면서 잔기 B31에서 N-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 25로 제공된다.

[0128] 서열 번호 25

[0129] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0130] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B31}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B31}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_4는 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B31}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B31}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser이다.

[0131] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 잔기 B31에서 N-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 26으로 제공된다.

[0132] 서열 번호 26

[0133] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Pro-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0134] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐

알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B31}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B31}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_4는 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B31}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B31}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser이다.

[0135] Pro^{B28}를 유지하면서 잔기 B31에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 27로 제공된다.

[0136] 서열 번호 27

[0137] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0138] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 선택적으로 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser이다.

[0139] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 잔기 B31에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 28로 제공된다.

[0140] 서열 번호 28

[0141] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Pro-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0142] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 선택적으로 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser이다.

[0143] Pro^{B28}를 유지하면서 B32 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 29로 제공된다.

[0144] 서열 번호 29

[0145] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0146] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는

페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐 알라닌이다; 이때, Xaa_3은 아르기닌, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다.

[0147] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 잔기 B32에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 30으로 제공된다.

[0148] 서열 번호 30

[0149] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Pro-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0150] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐 알라닌이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다.

[0151] Pro^{B28}를 유지하면서 B32 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 31로 제공된다.

[0152] 서열 번호 31

[0153] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Pro-Xaa_3-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0154] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐 알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5는 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다.

[0155] 위치 B29에서의 프롤린의 대안적인 배치와 함께 위치 B32의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 32로 제공된다.

[0156] 서열 번호 32

[0157] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Pro-Thr-Xaa_4-Xaa_5

[0158] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐 알라닌이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5는 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로

서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다.

[0159] B29 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 33으로 제공된다.

[0160] 서열 번호 33

[0161] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0162] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 프롤린, 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0163] B29 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 des-B30 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 34로 제공된다.

[0164] 서열 번호 34

[0165] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4

[0166] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 프롤린, 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다.

[0167] B29 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 35로 제공된다.

[0168] 서열 번호 35

[0169] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0170] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 프롤린, 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌, 아스파르트산, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다;

[0171] 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0172] B29 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 des-B30 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 36으로 제공된다.

[0173] 서열 번호 36

[0174] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4

[0175] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 프롤린, 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌, 아스파르트산, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다.

[0176] B28 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 37로 제공된다.

[0177] 서열 번호 37

[0178] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0179] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_4는 리신, 프롤린, 아르기닌, 알라닌, 아스파르트산, 글루탐산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 오르니틴, 디-아미노-부티르산 또는 디-아미노-프로피온산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0180] B28 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 des-B30 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 38로 제공된다.

[0181] 서열 번호 38

[0182] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4

[0183] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_4는 리신, 프롤린, 아르기닌, 알라닌, 아스파르트산, 글루탐산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 오르니틴, 디-아미노-부티르산 또는 디-아미노-프로피온산이다.

[0184] B28 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 des-[B29, B30] B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 39로 제공된다.

[0185] 서열 번호 39

[0186] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3

[0187] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다.

[0188] B28 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 40으로 제공된다.

[0189] 서열 번호 40

[0190] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0191] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0192] B28 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 des-B30 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 41로 제공된다.

[0193] 서열 번호 41

[0194] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4

[0195] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_4는 리신, 프롤린, 아르기닌, 알라닌, 아스파르트산, 글루탐산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 오르니틴, 디-아미노-부티르산 또는 디-아미노-프로피온산이다.

[0196] B28 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 des-[B29, B30] B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 42로 제공된다.

[0197] 서열 번호 42

[0198] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3

[0199] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다.

[0200] B29 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 43으로 제공된다.

[0201] 서열 번호 43

[0202] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0203] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 프롤린, 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0204] B29 위치의 염기성 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 des-B30 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 44로 제공된다.

[0205] 서열 번호 44

[0206] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4

[0207] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 프롤린, 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산 또는 디-아미노프로피온산의 D 또는 L 입체이성체의 유도체이고, 그 측쇄 아미노기는 디올 함유 시약에 연결된다.

[0208] Pro^{B28}를 유지하면서 B29 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 45로 제공된다.

[0209] 서열 번호 45

[0210] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0211] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신,

아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0212] B29 위치의 황 함유 잔기에서 디올 함유 시약에 의해 변형된 변이체 des-B30 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 46으로 제공된다.

[0213] 서열 번호 46

[0214] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4

[0215] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 리신, 오르티닌, 아르기닌, 디-아미노-부티르산, 디-아미노-프로피온산, 노르류신, 아미노부티르산, 아미노프로피온산, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_3은 알라닌, 아르기닌, 아스파르트산 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 시스테인 또는 호모시스테인의 D 또는 L 입체이성체의 유도체로서, 그 측쇄 황 원자가 디올 함유 시약에 연결된다.

[0216] 잔기 B28에서 O-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 47로 제공된다.

[0217] 서열 번호 47

[0218] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0219] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐알라닌이다; 이때, Xaa_3은 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 O^{β}-Thr^{B28}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B28}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_3은 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 O^{β}-Thr^{B28}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B28}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_4는 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 프롤린, 알라닌, 아스파르트산, 글루타민, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0220] 잔기 B28에서 N-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 48로 제공된다.

[0221] 서열 번호 48

[0222] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0223] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는

페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐 알라닌이다; 이때, Xaa_3은 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B28}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B28}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_3은 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B28}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B28}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_4는 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 프롤린, 알라닌, 아스파르트산, 글루타민, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0224] 잔기 B29에서 O-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 49로 제공된다.

[0225] 서열 번호 49

[0226] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0227] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐 알라닌이다; 이때, Xaa_3은 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 프롤린, 알라닌, 아스파르트산, 글루타민, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 O^{β}-Thr^{B29}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B29}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_3은 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 O^{β}-Thr^{B29}-연결된 또는 O^{β}-Ser^{B29}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0228] 잔기 B29에서 N-결합된 당화에 의해 변형된 변이체 B 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 50으로 제공된다.

[0229] 서열 번호 50

[0230] Xaa_1-Phe-Val-Glu-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Xaa_2-Phe-Tyr-Thr-Xaa_3-Xaa_4-Thr-Xaa_5-Xaa_6

[0231] 이때, Xaa_1은 Phe^{B1}의 천연 α-아미노기이거나, 선택적으로 페닐보론산 모이어티 또는 Phe^{B1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 페닐알라닌, 펜타-플루오로-Phe, 2-클로로-Phe, 2-브로모-Phe, 4-클로로-Phe, 2-메틸-Phe 또는 사이클로헥사닐 알라닌이다; 이때, Xaa_3은 아르기닌, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 디-아미노프로피온산, 프롤린, 알라닌, 아스파르트산, 글루타민, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_4는 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드, 및 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드로 이루어진 군으로부터 선택된 N^{β}-Asn^{B29}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B29}-연결된 단당류 피라노시드이거나, Xaa_3은 하나 이상의 상기 단당류 아단위를 함유하며 N^{β}-Asn^{B29}-연결된 또는 N^{γ}-Gln^{B29}-연결된 이당류이다; 이때, Xaa_5및 Xaa_6은 B 사슬의 하나 또는 두 개의 잔기 연장을 선택적으로 나타내는데, Xaa_5(선택적으로 존재하는 경우)는 Glu, Gin, Gly, Ala 또는 Ser일 수 있고 Xaa_5및 Xaa_6(선택적으로 존재하는 경우)은 동일한 아미노산 세트로부터 추출되어 하나 이상의 연장된 위치가 글루탐산이다.

[0232] Gly^{A1}의 α-아미노기에서 페닐보론산에 의해 변형된 인간 인슐린의 변이체 A 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호

51로 제공된다.

[0233] 서열 번호 51

[0234] Xaa_1-Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Xaa_2-Ser-Ile-Cys-Ser-Xaa_3-Xaa_4-Gln-Leu-Xaa_5-Asn-Tyr-Cys-Xaa_6

[0235] 이때, Xaa_1은 페닐보론산 모이어티이거나, Gly^{A1}의 α-아미노기에 대한 펩티드 연결이나 선택적인 아실 링커에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 트레오닌, 알라닌, 히스티딘, 글루타민, 아르기닌, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_3은 Leu 또는 Trp이다; 이때, Xaa_4는 티로신, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5는 글루탐산, 글루타민 또는 아르기닌이다; 이때, Xaa_6은 아스파라긴, 아스파르트산, 알라닌 또는 글리신이다.

[0236] A4 위치의 염기성 잔기의 측쇄 아미노기에서 페닐보론산에 의해 변형된 인간 인슐린의 변이체 A 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 52로 제공된다.

[0237] 서열 번호 52

[0238] Gly-Ile-Val-Xaai-Gln-Cys-Cys-Xaa_2-Ser-Ile-Cys-Ser-Xaa_3-Xaa_4-Gln-Leu-Xaa_4-Asn-Tyr-Cys-Xaa_5

[0239] 이때, Xaa_1은 페닐보론산 모이어티이거나, 리신, 오르니틴, 디-아미노부티르산, 또는 디-아미노프로피온산의 측쇄 아미노기에 의해 연결된 페닐보론산 모이어티의 할로겐 유도체이다; 이때, Xaa_2는 트레오닌, 알라닌, 히스티딘, 글루타민, 아르기닌, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_3은 Leu 또는 Trp이다; 이때, Xaa_4는 티로신, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5는 글루탐산, 글루타민 또는 아르기닌이다; 이때, Xaa_6은 아스파라긴, 아스파르트산, 알라닌 또는 글리신이다.

[0240] 인간 인슐린의 변이체 A 사슬의 아미노산 서열은 서열 번호 53으로 제공된다.

[0241] 서열 번호 53

[0242] Xaa_1-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Xaa_2-Ser-Ile-Cys-Ser-Xaa_3-Xaa_4-Gln-Leu-Xaa_4-Asn-Tyr-Cys-Xaa_5

[0243] Xaa_1은 D-리신, L-리신, D-오르니틴, L-오르니틴, D-디-아미노프로피온산, L-디-아미노-프로피온산으로 이루어진 군으로부터 선택된 염기성 잔기로서, 그 측쇄 아미노기는 할로겐 변형을 포함하는 페닐보론산 모이어티에 의해 유도되거나 아실 링커를 통해 선택적으로 부착된다; 이때, Xaa_2는 트레오닌, 알라닌, 히스티딘, 글루타민, 아르기닌, 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_3은 Leu 또는 Trp이다; 이때, Xaa_4는 티로신, 알라닌 또는 글루탐산이다; 이때, Xaa_5는 글루탐산, 글루타민 또는 아르기닌이다; 이때, Xaa_6은 아스파라긴, 아스파르트산, 알라닌 또는 글리신이다.

[0244] 트레오닌의 O^{β}-연결된 부가물로서 α-D-만노피라노시드, α-D-글루코피라노시드 및/또는 N-아세틸-β-D-갈락토피라노시드를 함유한 인슐린 유사체를 트립신 매개된 반합성에 의하여 제조하였다. 반합성을 위한 프로토콜로서, N 말단 글리신(옥타펩티드, 노나펩티드 또는 데카펩티드) 및 Thr^{B27} 및/또는 Thr^{B30}에서의 단당류 부가물을 함유하는 합성 펩티드와 함께, 인간 인슐린 또는 인슐린 유사체의 des-옥타펩티드[B23-B30] 단편을 이용하였다. 상기 des-옥타펩티드[B23-B30] 단편은 야생형 인슐린의 3개의 천연 이황화물 가교를 함유한다; 상기 단편, 펩티드 및 생성물을 고성능 액체 크로마토 그래피로 정제하는 것을 포함하는 상기 프로토콜은 기재된 내용의 변형이다(Mirmira, R.G., 및 Tager, H.S., 1989. J. Biol. Chem. 264: 6349-6354). 상기 프로토콜은 (i) 단당류 피라노시드 부가물을 함유하는 합성 펩티드(서열 번호 53 내지 65) 및 (ii) 절단된 des-트리펩티드[B1-B3]-des-옥타펩티드[B23-B30]-인슐린 유사체 또는 경우에 따라 $[His^{A4},His^{A8},Gly^{A21}]$-인슐린 유사체, $[His^{A4},His^{A8},Gly^{A21}]$-des-트리펩티드[B1-B3]-des-옥타펩티드[B23-B30]-인슐린 또는 경우에 따라 Gln^{B13}인슐린 유사체, Gln^{B13}-des-트리펩티드[B1-B3]-des-옥타펩티드[B23-B30]-인슐린 또는 경우에 따라 HisA8 인슐린 유사체를 이용하였다. 하기 문헌은 본 명세서에 기술된 시험 및 분석 방법이 당업자에 의해 이해될 수 있음을 설명하기 위해 인용된 것이다.

[0245] 페닐보론산의 NHS 활성화:

[0246] Gly^{A1}의 α-아미노기가 FPA에 의해 변형된 인슐린 유사체를 제조하기 위해, 프로토콜이 3단계로 전개되었다.

[0247] (i) 1단계: PBA 시약의 활성화.

[0248] 커플링이 가능한 종에 대한 4-카르복시-3-플루오로-페닐보론산 피나콜 에스테르(PBA; Combi-Blocks, San Diego, CA로부터 구입)의 활성화는 N- 하이드록시숙신아미드(NHS. Sigma Aldrich, St. Louis, MO)를 이용하여 구현하였다. 본 발명자들은 상기 단계를 아래와 같이 설명한다. 이를 위해, PBA(300 mg, 1.126 몰)를 4.4 mL의 에틸 아세테이트에 용해시켜 4℃에서 20분 동안 배양하였다. 이 반응 혼합물에, NHS 131 mg(1.14 몰)과 디사이클로헥실 카르보디이미드(DCC; Sigma Aldrich, St. Louis, MO) 247 mg(1.86 몰)을 첨가하였다. 상기 용액을 실온에서 밤새 교반하였다. N,N'-디사이클로헥실 우레아 부산물을 Eppendorf®의 마이크로퓨지에서 13,500 rpm으로 5분 동안 원심분리를 통해 제거하였다. 용매를 진공에서 제거하였다. PBA-N-하이드록시숙신이미드 에스테르를 아세톤 및 n-헥산으로부터 재결정화시켜 정제하였다. 생성물을 아세토니트릴에서 30 mg/ml로 생성하였다.

[0249] (ii) 2단계: 활성화된 PBA을 인슐린 단편의 N-말단(termini) 또는 N-말단(terminus)에 커플링.

[0250] des[B23-B30]-옥타펩티드 인슐린(DOI; pH 7.6에서 0.1 M 탄산나트륨의 100 ㎕ 중 5 mg)을 아세토 니트릴 중 PBA (30 mg/ml)의 NHS-에스테르 100 ㎕와 결합하였다. 상기 용액을 25℃에서 2시간 동안 교반하였다. 단일 유도된 DOI 분자 및 이중 유도된 DOI 분자 모두가 존재하는 단계에서 반응을 정지시켰다. 역상 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)를 이용하여 이들을 분리 및 개별 정제하였다. Higgins Analytical® Proto 300 C4 컬럼(10 ㎛, 250x20 mm)과 함께 Waters® 2535 4채널 기울기용리(quaternary-gradient) 크로마토그래피 시스템을 사용했다. 2완충액 이동상을 정제에 사용하였다: 수성 0.1% 트리플루오로 아세트산(TFA; 완충액 A) 및 아세토니트릴(완충액 B)중의 0.1% TFA를 5 % 내지 95 % 완충액 B의 기울기로 40분 초과하여 처리했다. 단백질 용리 시간은 Waters 2489 UV/Vis 검출기를 사용하여 215 nm 및 280 nm에서의 UV 흡광도를 통해 모니터링을 하였다. 단일 및 이중 결합된 분자들은 각각 18분 및 19.5분에 용리되었다. 단백질 생성물의 동질성은 Applied Biosystems® 4700 Proteomics Analyzer를 사용하여 MALDI-TOF 질량 분광법으로 확인하였다. 50% 아세토니트릴 0.1 % TFA 중의 α-시아노-4-하이드록시신남산(α-CHCA; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)의 포화 용액을 매트릭스로 사용하였다. 이전에 보고된 바와 같이(Hoeg-Jensen 외), 질량은 레이저 탈착시의 무수물 형성과 관련된 2개의 수산기의 손실을 나타냈다(단일 결합된 DOI의 질량: 4997, 이중 결합된 DOI의 질량: 5127). 상기 반응에 의하면, B-사슬에 결합되기 전에 PBA를 A-사슬의 N-말단에 결합하는 것으로 밝혀졌다. 단일 결합된 유사체의 동일성은 실온에서 1시간 동안 1x PBS pH 7.4에서 50 mM 디티오트레이톨(DTT)로 환원시킨 후에 확인되었다. Millipore C18 ZipTip® 스포이드 팁을 사용하여 단백질을 탈염시키고, α-CHCA 매트릭스 5㎕에 용리시켰다. 개별 폴리펩티드 사슬의 질량은 MALDI-TOF 질량 분광기 (질량 PBA-결합된 A 사슬: 2515, 질량 B 사슬: 2488)를 이용하여 확인되었다. 시료는 Labconco® Freezezone 6® 동결 건조기를 사용하여 동결 건조했다.

[0251] (iii) 3단계: 트립신 매개된 반합성.

[0252] 바람직한 인슐린 유사체는 상기 기술된 바와 같이 트립신 매개된 반합성에 의해 제조되었다.

[0253] 인슐린 유사체 육량체의 분해와 관련된 동적 특성을 평가하기 위해, 문헌 [Richards, J. P 외]에 설명된 바와 같은 흡광도 분광법이 이용되었다("제제 조건 하에서 단량체 인슐린 유사체의 자가 결합 특성", Pharm. Res. 15: 1434-41, 1998). 요약하면, 시각적 흡광도 분광법은 페놀 안정화된 R_6Co^{2+}치환 인슐린 육량체의 형성 및 분해를 모니터링하기 위한 간편한 탐침 방법을 제공한다. 이를 위해, 인슐린 유사체는 글루코스의 부재하에 또는 25 mM 글루코스의 존재하에 50 mM Tris-HCl(pH 7.4), 50 mM 페놀, 0.2 mM CoCl2 및 2 mM NaSCN을 함유하는 완충액에서 0.6 mM이 되도록 하였다. 시료의 pH는 각각 7.4였고, 시료들은 구조적(conformational) 평형에 도달하는 것을 연구하기 전에 실온에서 밤새 배양했다. 스펙트럼(400-750 nm)은 574 nm 또는 그 근처에서 d-d 흡광도 대역의 사면체 Co^{2+}배위를 모니터링하기 위해 수득하였다. 육량체로부터 Co^{2+}방출 속도를 판단하기 위해, EDTA 모액(pH 7.4에서 50 mM)의 분액을 최종 EDTA 농도 2 mM(즉, 코발트 이온의 총 농도를 초과)에 첨가함으로써 (피하 온도를 시뮬레이션하기 위해) 33 ℃에서 금속 이온 격리를 시작하였다. 수 초에서 수 시간의 시간 척도로 574-nm 흡광도 대역의 감쇠가 모니터링 되었다. 해리 후 흡광도 스펙트럼(400-750 nm)을 수집하여 d-d 흡광도 대역의 완전한 감쇠를 확인하였다. 동적 데이터는 해리 속도(또는 등가적으로 조정된 변이체 인슐린 R_6육량체의 Co^{2+} 반감기)를 판단하기 위한 단일 지수 감쇠 함수에 부합했다.

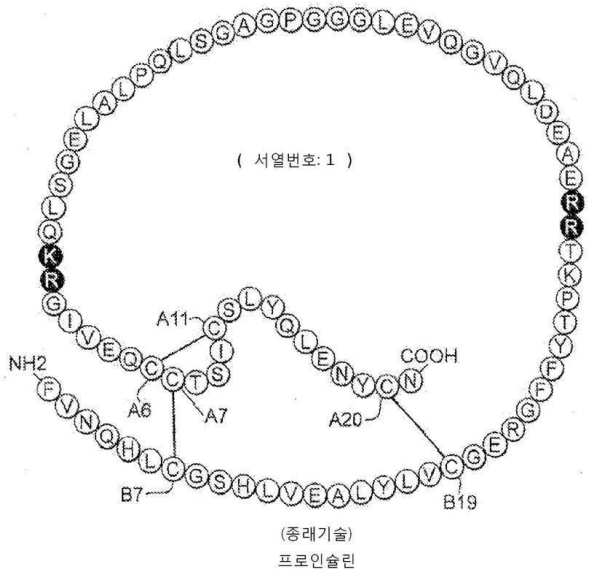
[0254] 설치류 분석 - 수컷 루이스 쥐(평균 체중 300 g)를 [0035]문단에서 설명한 바와 같이 스트렙토조토신(STZ)으로 처리하여 당뇨병을 발생시켰다. Orn^{B29}-인슐린 또는 Nle^{B29}-인슐린과 관련하여 인슐린 유사체의 생체 내 효력을 시험하기 위해, 인슐린 유사체를 함유하는 단백질 용액을 16 mg 글리세린, 1.6 mg 메토-크레졸, 0.65 mg 페놀 및 3.8 mg 인산나트륨으로 조성된 완충액(pH 7.4)에 구성하였다. 인슐린 유사체를 300 g 쥐당 완충액 100 μl당 10 μg의 양으로 꼬리 정맥에 정맥(IV) 주사를 놓았다. 혈당 농도의 변화는 임상 혈당 미터기(EasyMax 음성 혈당 미터기)를 사용하여 이후 수 시간 동안 연속 측정에 의해 모니터링하였다. 인슐린 유사체를 각각 역상 HPLC로 재정제하고, 분말로 건조킨 후, 동일한 최대 단백질 농도로 희석액에 용해시키고, 분석적인 C4 역상 HPLC을 이용하여 재정량하였다; 희석은 상기 완충액을 사용하여 수행하였다.

[0255] 시간 t = 0에 쥐에게 정맥 주사했다. 혈액은 클립핑된 꼬리 끝에서 시간 t = 0에 수득하였고, 첫 1시간동안 10 분마다, 2 시간부터 20 분마다, 3 시간부터 30 분마다, 이후 360 분까지 매 시간 수득하였다. 고친화성 천연 유사체의 연구의 규모가 제한적이었지만(N = 5 마리의 쥐), 요오드-Tyr^{B26} 변형의 영향은 더 충실히 평가되었다. 따라서, 쥐의 군집 환경에 영향을 미칠 수 있는 교란 변수를 피하기 위해, 3-I-Tyr^{B26}-Nle^{B29}-인슐린에 관한 연구는 6 개월에 걸쳐 주별로 4회의 날짜에 (Nle^{B29}-인슐린과 관련하여) 반복되었다. 각 날짜(N = 4 또는 5)에 연구된 쥐는 대형 군집(50 마리)에서 무작위로 수득했다. 기준선에서의 평균 혈당 수치는 각 그룹과 각 날짜별로 유사했다. 유사한 개별 동향이 각 날짜에 관찰되었다. 혈당 농도를 감소시키데 있어서 인슐린 작용의 효능은 (a) 첫 시간 동안의 농도 변화(d[포도당]/dt), (b) 시작 혈당 농도에서 최종 농도까지 글루코스 시간 의존성 및 대략적인 수평선 사이의 통합 면적; 및, (c) 첫 0-80 분에서 동일한 곡선의 통합 면적과 이와 대조적인 80-360 분 간격에서 관찰된 곡선의 통합 면적(후자는 인슐린 작용의 지연된 "꼬리"를 나타냄)을 이용하여 계산하였다; 기준선 아래와 고혈당 기준선 위의 면적 및 관찰된 혈당 농도를 나타내는 상기 곡선 위의 면적은 사다리꼴 근사법에 의해 평가되고 AOC로 표시된다. 통계적 유의성 평가는 학생 t테스트(Student's t-test)를 사용하여 수행되었다.

[0256] 본 발명자의 체외 인슐린 수용체 결합 분석은 인슐린 수용체 아형을 나타내는 93PEAK 세포주를 다클론성 안정화 감염시킨 세제 용해물로부터 순차적 밀-배아 응집소(WGA) 및 스트랩탁틴(Streptactin)-친화성 크로마토그래피에 의해 정제된 C-말단 스트렙타아비딘 결합 단백질 태그를 갖는 가용 인슐린 수용체(아형 B)를 이용하였다. 인슐린 유사체의 일련의 희석(11개의 희석, 각각 최대 최종 농도 2 μM의 5배)은 100 ㎕ 결합 완충액(100 mM HEPES (pH 7.8), 100 mM NaCl, 10 mM MgSO4, 0.025% (v/v) 트윈 20 and 0.5% (w/v) 소의 혈청 알부민)에서 96-웰플레이트(well plate; Costar)을 이용하여 제조하였다. 상기 분석은 100㎕ 결합 완충액의 웰에 (i) WGA 섬광 근접 분석(SPA) 구슬(Perkin Elmer), (ii) 가용화된 수용체, 및 (iii) 방사성 동위 원소 표지물질로서 기능하는 ^{125}I-Tyr^{A14}-인슐린을 보충하여 첨가함으로써 개시하였다. [^{125}I]표지된 리간드의 최종 농도는 7.5 pM이었고, 첨가된 수용체의 양은 리간드 소모 아티팩트를 방지하기 위해 경쟁자가 부재인 상태에서 표지된 리간드 결합은 총 부가 횟수의 15 % 미만으로 조정되었다. 플레이트를 실온에서 24 시간 동안 완만하게 진탕 배양하고, 원심 분리하였고, 웰마다 12-검출기용 Trilux 섬광 계수기 (Perkin Elmer/Wallac)에서 5분 동안 계수하였다. 유사체 해리 상수를 얻기 위해, 비선형 회귀분석을 이용하여 경쟁적 결합 데이터를 분석하였다.

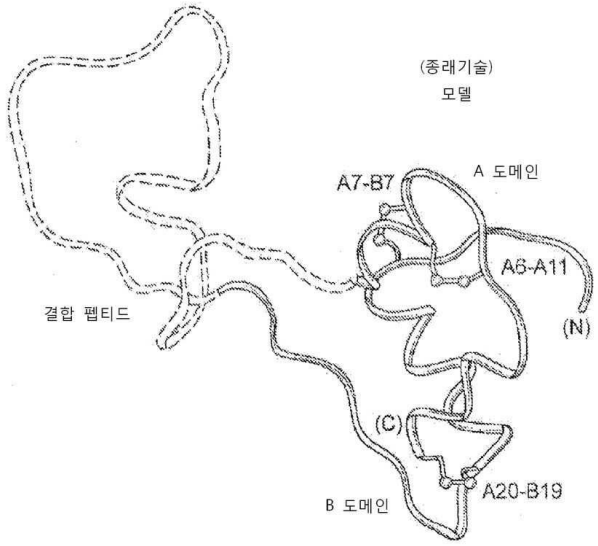
도면

도면1a



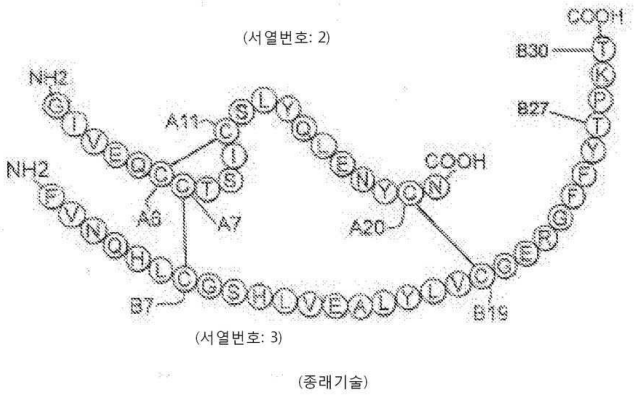
(종래기술)
프로인슐린

도면1b



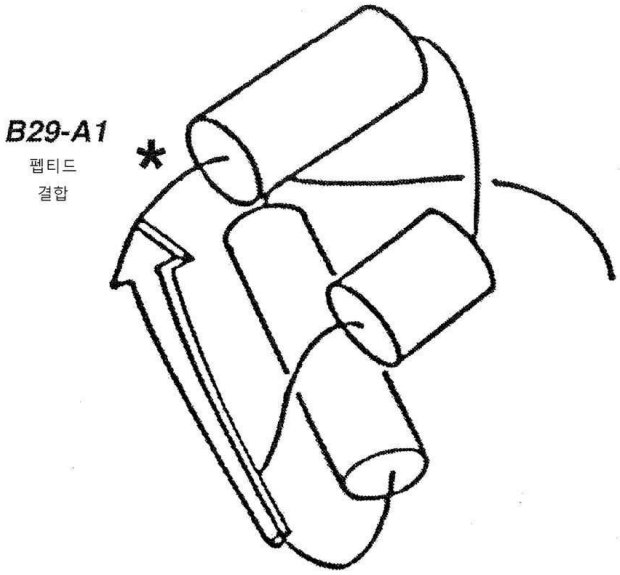
(종래기술)
모델

도면1c

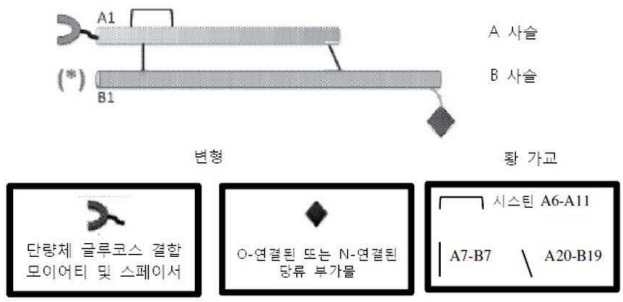


(종래기술)

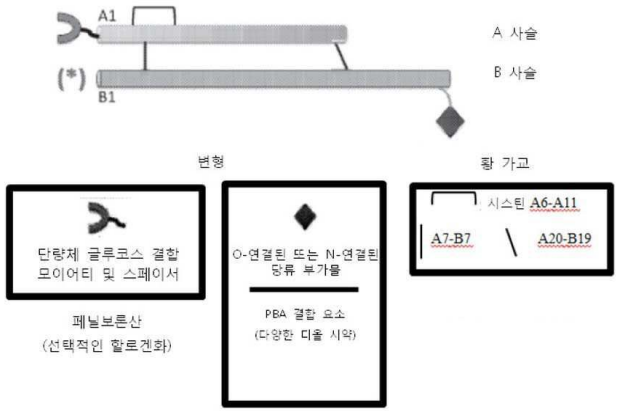
도면2



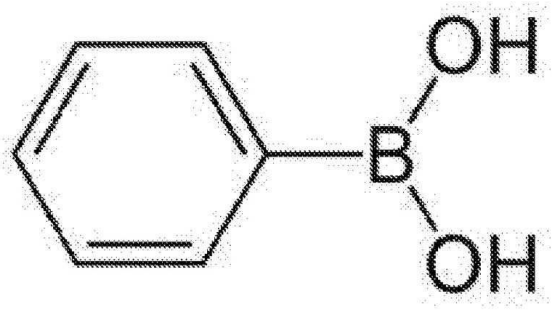
도면3a



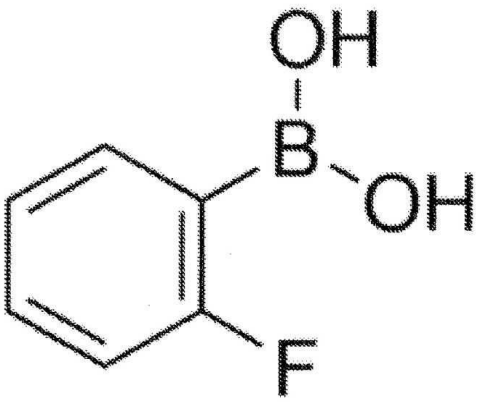
도면3b


A1
(*)
B1
A 사슬
B 사슬
변형
황 가고
단량체 글루코스 결합
모이어티 및 스페이서
페닐보론산
(선택적인 할로겐화)
O-연결된 또는 N-연결된
당류 부가물
PBA 결합 요소
(다양한 디올 시약)
시스틴 A6-A11
A7-B7
A20-B19

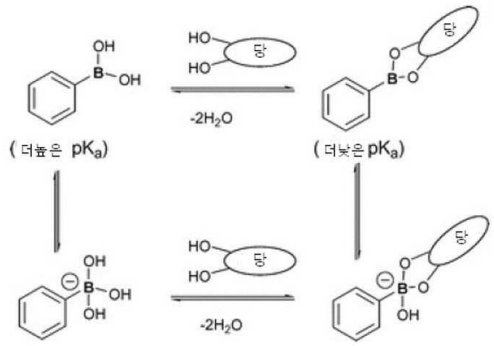
도면4


OH
B
OH

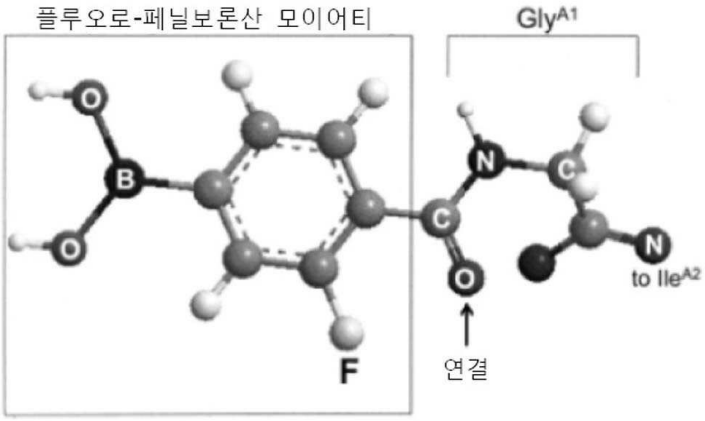
도면5


OH
B
OH
F

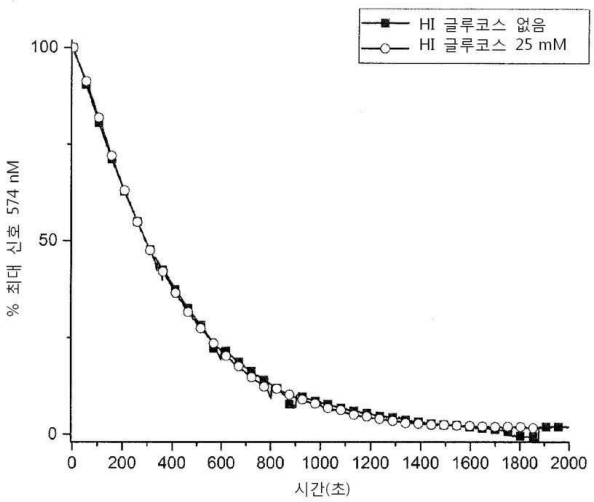
도면6


OH
B
OH
HO
HO
당
-2H2O
(더높은 pKa)
(더낮은 pKa)
O
B-O
OH

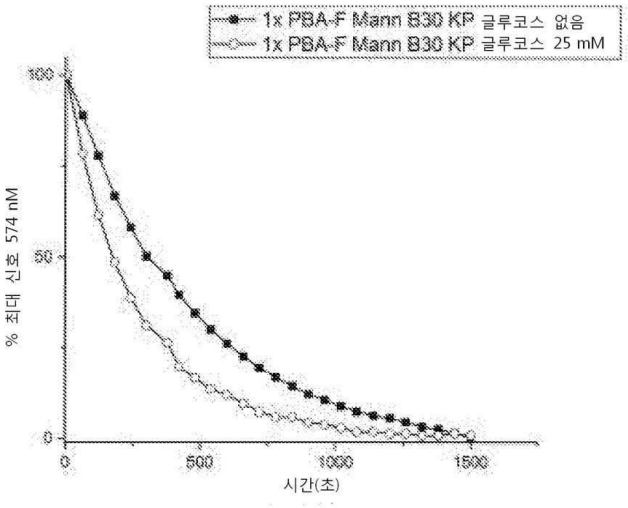
도면7


플루오로-페닐보론산 모이어티
GlyA1
O
B
N
C
to IleA2
F
연결

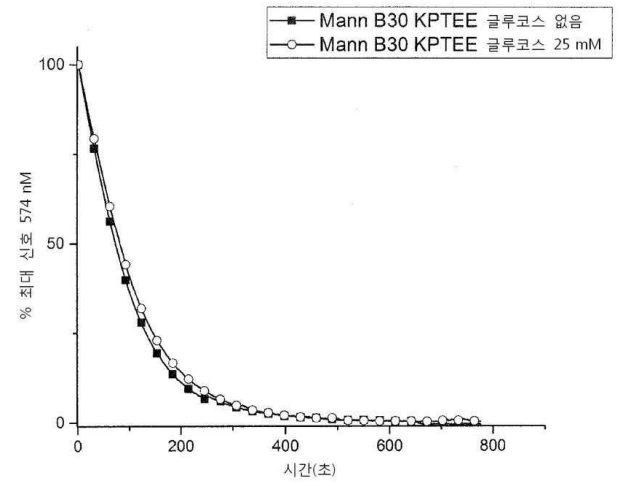
도면8a


HI 글루코스 없음
HI 글루코스 25 mM
% 최대 신호 574 nM
100
50
0
0
200
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
시간(초)

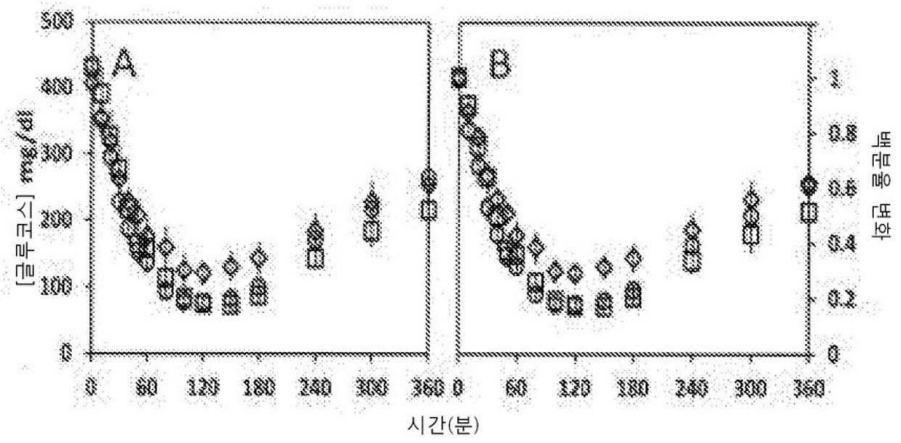
도면8b



도면8c



도면9



서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> CASE WESTERN RESERVE UNIVERSITY

<120> INSULIN ANALOGUES CONTAINING A GLUCOSE-REGULATED CONFORMATIONAL SWITCH

<130> 20051200321

<140> PCT/US16/022390

<141> 2016-03-14

<150> US 62/133,251

<151> 2015-03-13

<150> US 62/133,704

<151> 2015-03-13

<160> 53

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 86

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

Glu Ala Glu Asp Leu Gln Val Gly Gln Val Glu Leu Gly Gly Gly Pro
35 40 45

Gly Ala Gly Ser Leu Gln Pro Leu Ala Leu Glu Gly Ser Leu Gln Lys
50 55 60

Arg Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln
65 70 75 80

Leu Glu Asn Tyr Cys Asn
85

<210> 2

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 2

Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu

1 5 10 15

Glu Asn Tyr Cys Asn

20

<210> 3

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 3

Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr

20 25 30

<210> 4

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Phe Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Lys Pro Thr

20 25 30

<210> 5

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 5

Phe Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Lys Pro Thr Glu Glu

20 25 30

<210> 6

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> Xaa is an amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Ornithine

<400> 6

Phe Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser Xaa Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Xaa Thr

20 25 30

<210> 7

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta fluoro Phe, 2 chloro Phe, 2 bromo Phe, 4 chloro Phe, 2 methyl Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Thr or Ser linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D mannopyranoside, alpha-D glucopyranoside, N acetyl b D galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di amino butyric acid, di amino propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 7

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 8

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta fluoro Phe, 2 chloro Phe, 2 bromo Phe, 4 chloro Phe, 2 methyl Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Thr or Ser linked to one or more saccharide subunits

selected from alpha-D mannopyranoside, alpha-D glucopyranoside, N acetyl b D galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lysine, Arginine, Ornithine, di aminobutyric acid, di aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 8

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Xaa Xaa Pro Thr Xaa Xaa

20 25 30

<210> 9

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta fluoro Phe, 2 chloro Phe, 2 bromo Phe, 4 chloro Phe, 2 methyl Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D mannopyranoside, alpha-D glucopyranoside, N acetyl b D galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di amino butyric acid, di amino propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 9

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 10

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta fluoro Phe, 2 chloro Phe, 2 bromo Phe, 4 chloro Phe, 2 methyl Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D mannopyranoside, alpha-D glucopyranoside, N acetyl b D galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lysine, Arginine, Ornithine, di aminobutyric acid, di aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 10

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 11

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is an Arginine, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 11

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 12

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222
> (27)..(27)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Arginine, Alanine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or

Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 12

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 13

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(27)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is an Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic

acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or

Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 13

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 14

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (27)..(27)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Arginine, Ornithine, di-aminobutyric acid, di-aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 14

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 15

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Thr or Ser linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside, N-acetyl-b-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 15

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 16

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,

2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lysine, Arginine, Ornithine, di-aminobutyric acid, di-aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Thr or Ser linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside, N-acetyl-b-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 16

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Pro Xaa Xaa Xaa

20 25 30

<210> 17

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid,

aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside, N-acetyl-b-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 17

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Pro Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

<210> 18

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lysine, Arginine, Ornithine, di-aminobutyric acid, di-aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside,

N-acetyl-b-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 18

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Pro Xaa Xaa Xaa

20 25 30

<210>

19

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 19

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 20

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 20

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 21

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (29)..(29)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 21

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Pro Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

<210> 22

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (30)..(30)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 22

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 23

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,
2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid,
di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid,

aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Thr or Ser linked to one or more saccharide subunits
selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside,
N-acetyl-Beta-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser

<400> 23

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 24

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or
halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by
peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,

2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lysine, Arginine, Ornithine, di-aminobutyric acid,
di-aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits
selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside,
N-acetyl- Beta-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser

<400> 24

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 25

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or

halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by
peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,

2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside, N-acetyl- Beta-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser

<400> 25

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 26

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-aminobutyric acid,
di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid,
aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits
selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside,
N-acetyl- Beta-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser

<400> 26

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 27

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or
halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,
2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent or is Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser

<400> 27

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 28

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent or Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser

<400> 28

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 29

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Arginine, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221

> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine,
Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose
side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<400> 29

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 30

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or
halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by
peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,
2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (28)..(28)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<400> 30

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Pro Thr Xaa Xaa

20 25 30

<210> 31

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221

> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<400> 31

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 32

<211> 32

<212
> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(31)

<223> Xaa is Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (32)..(32)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<400> 32

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Pro Thr Xaa Xaa

20 25 30

<210> 33

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Proline, Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 33

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Xaa Thr Xaa Xaa

20 25 30

<210> 34

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Proline, Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<400> 34

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Xaa

20 25

<210> 35

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Proline, Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 35

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 36

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Proline, Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<400> 36

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Xaa
20 25

<210> 37

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or

halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Proline, Arginine, Alanine, Arginine, Aspartic Acid, Glutamic Acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Ornithine, di-aminobutyric acid, or di-aminopropionic acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 37

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 38

<211> 30

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> misc_feature

<222> (25)..(25)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Proline, Arginine, Alanine, Arginine, Aspartic Acid, Glutamic Acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Ornithine, di-aminobutyric acid, or

di-aminopropionic acid

<220><221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 38

Xaa Phe Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu
1 5 10 15

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

<210> 39

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or

halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<400> 39

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa
20 25

<210> 40

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is any amino acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 40

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 41

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine,

Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Lysine, Proline, Arginine, Alanine, Arginine, Aspartic Acid, Glutamic Acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Ornithine, di-aminobutyric acid, or di-aminopropionic acid

<400> 41

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Xaa
20 25

<210> 42

<211> 28

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,

2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<400> 42

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr

1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa

20 25

<210> 43

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Proline, Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 43

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Xaa Thr Xaa Xaa
20 25 30

<210> 44
<211> 29
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (24)..(24)
<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (28)..(28)
<223> Xaa is Proline, Alanine, Arginine, Aspartic Acid, or Glutamic Acid
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (29)..(29)
<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid whose side chain amino group is linked to a diol-containing reagent
<400> 44
Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Xaa
20 25

<210> 45
<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (29)..(29)

<223> Xaa is a derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 45

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 46

<211> 29

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,

2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Lysine, Ornithine, Arginine, di-amino-butyric acid, di-amino-propionic acid, Norleucine, aminobutyric acid, aminopropionic acid, Alanine, Aspartic Acid or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa isa derivative of the D or L stereoisomer of Cysteine or Homocysteine whose side-chain sulfur atom is linked to a diol-containing reagent

<400> 46

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Xaa
20 25

<210> 47

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or

halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE
<222> (24)..(24)
<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (28)..(28)
<223> Xaa is Thr or Ser linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside, N-acetyl-b-D-galactopyranoside
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (29)..(29)
<223> Xaa is Arginine, Ornithine, di-aminobutyric acid,

di-aminopropionic acid, Proline, Alanine, Aspartic Acid, Glutamine, or Glutamic Acid
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (31)..(32)
<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid
<400> 47

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15
Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Xaa Phe Tyr Thr Xaa Xaa Thr Xaa Xaa
20 25 30

<210> 48
<211> 32
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220><221> MISC_FEATURE
<222> (1)..(1)
<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or

halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222

> (28)..(28)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside, N-acetyl-b-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Arginine, Ornithine, di-aminobutyric acid, di-aminopropionic acid, Proline, Alanine, Aspartic Acid, Glutamine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or

Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 48

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 49

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or

halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe, 2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Arginine, Ornithine, di-aminobutyric acid, di-aminopropionic acid, Proline, Alanine, Aspartic Acid, Glutamine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Thr or Ser linked to one or more saccharide subunits selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside, N-acetyl-b-D-galactopyranoside

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 49

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 50

<211> 32

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Phe or Phe modified with a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (24)..(24)

<223> Xaa is Phenylalanine, penta-fluoro-Phe, 2-chloro-Phe,

2-bromo-Phe, 4-chloro-Phe, 2-methyl-Phe, or Cyclohexanylalanine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (28)..(28)

<223> Xaa is Arginine, Ornithine, di-aminobutyric acid,
di-aminopropionic acid, Proline, Alanine, Aspartic Acid,
Glutamine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (29)..(29)

<223> Xaa is Asn or Gln linked to one or more saccharide subunits
selected from alpha-D-mannopyranoside, alpha-D-glucopyranoside,
N-acetyl-b-D-galactopyranoside

<220

><221> MISC_FEATURE

<222> (31)..(32)

<223> Xaa Xaa is 0-2 amino acids selected from Glu, Gln, Gly, Ala, or
Ser and if present, at least one amino acid is Glutamic Acid

<400> 50

Xaa Val Glu Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr
1 5 10 15

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

<210> 51

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is Gly or Gly modified with a phenylboronic-acid moiety or
halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by

peptide linkage or optional acyl linker to the a-amino group of Gly

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Threonine, Alanine, Histidine, Glutamine, Arginine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Leu or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Tyrosine, Alanine or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is Glutamic Acid, Glutamine or Arginine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Asparagine, Aspartic Acid, Alanine or Glycine

<400> 51

Xaa Ile Val Glu Gln Cys Cys Xaa Ser Ile Cys Ser Xaa Xaa Gln Leu
1 5 10 15

Xaa Asn Tyr Cys Xaa
20

<210> 52

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (4)..(4)

<223> Xaa is a phenylboronic-acid moiety or halogenic derivative of a phenylboronic-acid moiety connected by to the side-chain amino group of Lysine, Ornithine, di-aminobutyric acid or di-aminopropionic acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Threonine, Alanine, Histidine, Glutamine, Arginine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Leu or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Tyrosine, Alanine or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is Glutamic Acid, Glutamine or Arginine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Asparagine, Aspartic Acid, Alanine or Glycine

<400> 52

Gly Ile Val Xaa Gln Cys Cys Xaa Ser Ile Cys Ser Xaa Xaa Gln Leu
1 5 10 15

Xaa Asn Tyr Cys Xaa
20

<210> 53

<211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> Xaa is a basic residue selected from the group consisting of D- or L-Lys, D- or L-Orn, D- or L-di-aminopropionic acid derivatized by a phenylboronic acid moiety optionally including a halogenic modification and optionally attached via an acyl linker

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (8)..(8)

<223> Xaa is Threonine, Alanine, Histidine, Glutamine, Arginine, or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (13)..(13)

<223> Xaa is Leu or Trp

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (14)..(14)

<223> Xaa is Tyrosine, Alanine or Glutamic Acid

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (17)..(17)

<223> Xaa is Glutamic Acid, Glutamine or Arginine

<220><221> MISC_FEATURE

<222> (21)..(21)

<223> Xaa is Asparagine, Aspartic Acid, Alanine or Glycine

<400> 53

Xaa Ile Val Glu Gln Cys Cys Xaa Ser Ile Cys Ser Xaa Xaa Gln Leu
1 5 10 15

Xaa Asn Tyr Cys Xaa
20