



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 105008548 B

(45) 授权公告日 2020.11.27

(21) 申请号 201380073797.1

(22) 申请日 2013.12.26

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105008548 A

(43) 申请公布日 2015.10.28

(30) 优先权数据

61/746,499 2012.12.27 US

61/779,604 2013.03.13 US

61/887,129 2013.10.04 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015.08.25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/077782 2013.12.26

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/105939 EN 2014.07.03

(73) 专利权人 恩格姆生物制药公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 雷·灵 建·罗

(54) 发明名称

用于调节胆汁酸体内稳态以及治疗胆汁酸紊乱和疾病的方法

(57) 摘要

本发明涉及具有一种或多种活性如胆汁酸体内稳态调节活性的成纤维细胞生长因子19 (FGF19) 的变体和融合体、成纤维细胞生长因子21 (FGF21) 的变体和融合体、FGF19和/或FGF21的融合体以及FGF19和/或FGF21蛋白质和肽序列 (和肽模拟物) 的变体或融合体,及其用于治疗胆汁酸和其他疾病的方法和用途。

(74) 专利代理机构 北京安信方达知识产权代理

有限公司 11262

代理人 郑霞

(51) Int.CI.

C12P 21/02 (2006.01)

C07K 14/50 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 102656266 A, 2012.09.05

US 2010323954 A1, 2010.12.23

WO 2013006486 A2, 2013.01.10

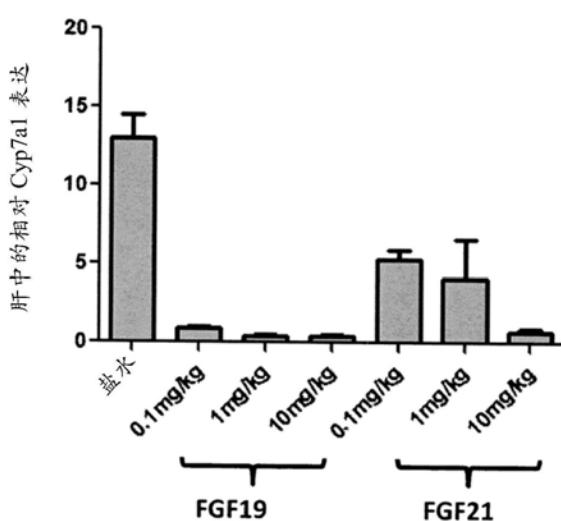
Claudel T., Role of nuclear receptors for bile acid metabolism, bile secretion, cholestasis, and gallstone disease.

《Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Basis of Disease》.2010, 第1812卷 (第8期), 867–878.

审查员 吕健

权利要求书3页 说明书62页

序列表123页 附图7页



1. 肽在制备用于调节对象胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病的药物中的用途,其中所述肽由选自如下序列的氨基酸序列组成:SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:69、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:75、SEQ ID NO:76或SEQ ID NO:85。
2. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述肽的长度小于250个氨基酸。
3. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述肽由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成。
4. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述肽由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成。
5. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述肽由SEQ ID NO:69的氨基酸序列组成。
6. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述肽由SEQ ID NO:70的氨基酸序列组成。
7. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述肽由SEQ ID NO:75的氨基酸序列组成。
8. 据权利要求1所述的用途,其中,所述肽由SEQ ID NO:76的氨基酸序列组成。
9. 据权利要求1所述的用途,其中,所述肽由SEQ ID NO:85的氨基酸序列组成。
10. 根据权利要求1所述的用途,其中所述肽与免疫球蛋白的Fc区融合。
11. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述肽被配制为药物组合物,该药物组合物进一步包含药用载体。
12. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物被制备用于联合补充疗法向所述对象施用。
13. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物可降低所述对象的CYP7a1水平。
14. 根据权利要求1所述的用途,其中,所述药物减少所述对象的胆汁酸合成。
15. 根据权利要求1-14任一项所述的用途,其中,所述药物用于调节所述对象胆汁酸体内稳态。
16. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有原发性胆汁性肝硬化。
17. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有胆汁郁积。
18. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有原发性硬化性胆管炎。
19. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有胆汁酸腹泻。
20. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有妊娠肝内胆汁郁积。
21. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有胆汁酸合成异常。
22. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有胆汁酸吸收不良。
23. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有非-酒精性脂肪性肝炎。
24. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有纤维化。
25. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有肝硬化。
26. 根据权利要求15所述的用途,其中,所述对象患有非酒精性脂肪肝病。
27. 根据权利要求1-14任一项所述的用途,其中,所述药物用于治疗对象的胆汁酸有关或相关疾病。
28. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括原发性胆汁性肝硬化。
29. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括胆汁郁积。
30. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括原发性硬化性胆管炎。
31. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括胆汁酸腹泻。

32. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括妊娠肝内胆汁郁积。

33. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括胆汁酸合成异常。

34. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括胆汁酸吸收不良。

35. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括非-酒精性脂肪性肝炎。

36. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括纤维化。

37. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括肝硬化。

38. 根据权利要求27所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括非酒精性脂肪肝病。

39. 肽在制备用于调节对象胆汁酸体内稳态的药物中的用途,所述肽由SEQ ID N0:70的氨基酸序列组成。

40. 肽在制备用于调节对象胆汁酸体内稳态的药物中的用途,所述肽由SEQ ID N0:69的氨基酸序列组成。

41. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有原发性胆汁性肝硬化。

42. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有胆汁郁积。

43. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有原发性硬化性胆管炎。

44. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有胆汁酸腹泻。

45. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有妊娠肝内胆汁郁积。

46. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有胆汁酸合成异常。

47. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有胆汁酸吸收不良。

48. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有非-酒精性脂肪性肝炎。

49. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有纤维化。

50. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有肝硬化。

51. 根据权利要求39或40所述的用途,其中,所述对象患有非酒精性脂肪肝病。

52. 肽在制备用于治疗对象胆汁酸有关或相关疾病的药物中的用途,所述肽由SEQ ID N0:70的氨基酸序列组成。

53. 肽在制备用于治疗对象胆汁酸有关或相关疾病的药物中的用途,所述肽由SEQ ID N0:69的氨基酸序列组成。

54. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病原发性胆汁性肝硬化。

55. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括胆汁郁积。

56. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括原发性硬化性胆管炎。

57. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括胆汁酸腹泻。

58. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括妊娠肝内胆汁郁积。

59. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括胆汁酸合成异常。

60. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括胆汁酸吸收不良。

61. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括非-酒精性脂肪性肝炎。

62. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括纤维化。

63. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括肝硬化。

64. 根据权利要求52或53所述的用途,其中,所述胆汁酸有关或相关疾病包括非酒精性脂肪肝病。

65. 根据权利要求36、37、46或47中任一项所述的用途,其中,所述肽与免疫球蛋白的Fc区融合。

66. 根据权利要求36、37、46或47中任一项所述的用途,其中,所述肽被配制为药物组合物,该药物组合物进一步包含药用载体。

67. 根据权利要求36、37、46或47中任一项所述的用途,其中,所述药物被制备用于联合补充疗法向所述对象施用。

68. 根据权利要求36、37、46或47中任一项所述的用途,其中,所述药物可降低所述对象的CYP7a1水平。

69. 根据权利要求36、37、46或47中任一项所述的用途,其中,所述药物减少所述对象的胆汁酸合成。

用于调节胆汁酸体内稳态以及治疗胆汁酸紊乱和疾病的方法

[0001] 相关申请的引用

[0002] 本申请要求于2012年12月27日提交的美国序列号61/746,499、2013年3月13日提交的美国序列号61/779,604和2013年10月4日提交的每个序列号61/887,129的权益,将其每一个通过引用以其整体结合于此。

技术领域

[0003] 本发明涉及成纤维细胞生长因子19 (FGF19) 蛋白质和肽序列 (和肽模拟物) 的变体和FGF19和/或成纤维细胞生长因子21 (FGF21) 蛋白质和肽序列 (和肽模拟物) 的融合体,以及调节胆汁酸体内稳态 (homeostasis) 的FGF19和/或FGF21蛋白质和肽序列 (和肽模拟物) 的融合体的变体,和用于治疗胆汁酸相关和有关疾病的方法或所述变体和融合体在治疗胆汁酸相关和有关疾病中的用途。

[0004] 引言

[0005] 主要存在于哺乳动物的胆汁中的胆汁酸、类固醇酸,调节胆固醇、甘油三酯、葡萄糖和能量体内稳态,并且促进脂质在小肠中的消化和吸收。脂质和脂肪可溶性维生素在肠中的乳化允许形成微团,其然后可以经由乳系统转运。胆汁酸的其他功能包括驱动胆汁流动以消除来自分解代谢产物并且有助于减少小肠和胆道中存在的菌群。胆汁酸还涉及其自身合成和肠肝循环的调节。参见,例如,Staels等人,Diabetes Care (2009) vol.32no.suppl 2 S237-S245。

[0006] 在人中,通过系列的将胆固醇转化为两种主要胆汁酸 (即胆酸和鹅去氧胆酸) 的酶反应,胆汁酸产生主要发生在经脉周围的肝细胞中。初级胆汁酸通过两种不同途径合成。在“经典”或“中性”途径中,初级胆汁酸通过由细胞色素P450酶胆固醇7 α -羟化酶 (cyp7a1) 的催化对胆固醇羟基化而产生,色素酶催化经典胆汁酸合成途径中的第一和限速步骤。(参见,例如,Inagaki等人,Cell Metabolism 2:217-25 (2005年10月))。

[0007] 如本文进一步描述的,cyp7a1的活性由胆酸下调并且由胆固醇上调;因此,cyp7a1由胆汁酸本身调节。胆固醇向胆汁酸的转化主要通过此途径实现。另外,在大多数个体中,大约6%的胆汁酸通过“备选”或“酸性”途径合成。此途径通过酶cyp27a1调节,该酶将氧类固醇转化为胆汁酸。与cyp7a1相反,cyp27a1不由胆汁酸本身调节。

[0008] 当胆酸和鹅去氧胆酸分泌到肠道内腔中时,肠道细菌是其各自的一部分脱氢而形成次级胆汁酸、去氧胆酸 (衍生自胆酸) 和石胆酸 (衍生自鹅去氧胆酸)。肝细胞可以将这四种胆汁 (酸) 与两种氨基酸 (即甘氨酸或牛磺酸) 中的一种缀合,而形成总共八种可能的缀合氨基酸,称为胆汁盐。因此,总计的主要胆汁酸是胆酸、鹅去氧胆酸、甘胆酸 (glycocholalic acid)、牛磺胆酸 (taurocholalic acid)、去氧胆酸和石胆酸。所有这些胆汁酸中的四种可以转运返回到血流中,回到肝,并且通过肠肝循环再分泌。参见,例如,Staels等人,Diabetes Care (2009) vol.32suppl 2 S237-S245。

[0009] 初级胆汁酸 (胆酸和鹅去氧胆酸) 在肝内合成,而次级胆汁酸 (去氧胆酸和石胆酸) 由细菌制备。这四种胆汁酸分泌到胆汁小管管腔中用于储存在胆囊中作为具有磷脂和

胆固醇的混合微团。在摄取膳食后,胆囊收缩素刺激胆囊收缩,导致其将微团胆汁酸释放到肠道内腔中以帮助消化。肠肝循环能够实现~90~95%的胆汁酸从远端回肠被再吸收并且转运回到肝;这种胆汁酸摄入和转运主要通过周围肝细胞发生。大约5%的没有被再吸收的胆汁酸在粪便中清除并且该损失的量随后通过肝中的重新胆汁酸合成置换。参见,例如,Rose等人,Cell Metabolism,14:1,pp 123~130(2011年7月6日)。

[0010] 初级胆汁酸(鹅去氧胆酸和胆酸)是类法尼醇-X-受体(FXR)、孕烷-X-受体(PXR)和组成型雄烷受体(CAR)的生理学配体/激活剂,并且石胆酸是用于维生素D受体(VDR)和G-蛋白偶联受体TGR5的配体。FXR展现对于胆汁酸的高选择性;相反,PXR和CAR作用于大量整合脂质体内稳态和异生物质代谢的受体。FXR、PXR、CAR和TGR5在调节脂质和葡萄糖体内稳态与能量消费中,以及在调节肝和外周胰岛素敏感性中发挥协同活性。作为表面活性剂或去污剂,胆汁酸对于细胞是潜在有毒的,并且胆汁酸池的尺寸在肝和肠道内密切地调节以防止细胞毒性累积。当胆汁酸池尺寸增大时,涉及多个细胞核受体(包括FXR)的交互作用的反馈机制被激活以抑制重新胆汁酸合成。参见,例如,Fiorucci等人,Prog Lipid Res.2010年4月;49(2):171~85.Epub 2009年12月2日。

[0011] 肝中胆汁酸的合成由激素FGF19负调节。FGF19分泌自肠道并且向肝发送信号以抑制Cyp7a1。相比之下,由于在饮食后经肠道胆汁酸排出所致的肠道FXR激活还诱导FGF19的表达,其通过小肠上皮细胞释放并循环以结合至肝细胞FGF受体4(FGFR4)受体;FGFR4受体经由c-Jun NH₂-末端激酶(JNK)途径发送胆汁酸合成减少的信号。CYP7A1的抑制导致响应于日进食-空腹周期从肝内胆固醇合成胆汁酸降低。

[0012] 治疗意义

[0013] 如本文描述的,异常胆汁酸体内稳态可导致或恶化许多疾病,包括胆汁郁积、门体分流(portosystemic shunt)、克劳恩病、和肝微血管发育不良(hepatic microvascular dysplasia)。另外,胆汁酸在调节代谢综合征中起作用,一系列心血管疾病风险因子,其包括内脏肥胖、胰岛素抗性、异常血脂症、增加的血压和血凝过快。因此,胆汁酸活性的调节可以提供大量有益的治疗效果。

[0014] 脂质-和葡萄糖-相关的疾病

[0015] FXR通过胆汁酸(或非类固醇的合成FXR激动剂)激活降低血浆甘油三酯并且已经显示改善糖尿病小鼠中的血糖过高症。胆汁酸也可以通过激活G蛋白偶联受体TGR5而在小鼠中以与FXR无关的方式调节能量消费。因此FXR活性和胆汁酸代谢的调节可以提供用于治疗例如代谢综合征和2型糖尿病的治疗方法。参见,例如,Lefebvre等人,Physiol Rev.2009 Jan;89(1):147~91。

[0016] 胆汁酸合成(连同回肠切除)破坏胆汁酸的肠肝循环,降低血浆总(plasma total)和LDL胆固醇,并且增高HDL胆固醇、阿朴脂蛋白(apo)-AI和甘油三酯的水平。作为中断胆汁酸至肝的返回的直接结果,cyp7a1表达被抑制,并且胆固醇到胆汁酸的转化被刺激。因此,汇集肠道中的胆汁酸的试剂(例如,消胆胺)防止它们的再吸收,作为补偿机制,导致更多内源性胆固醇分流到胆汁酸的产生,导致降低的胆固醇水平。

[0017] 由于增加的转向胆汁酸合成所致的肝胆固醇的消耗导致增加的肝LDL受体表达,这导致引起由胆汁酸合成或回肠切除产生的总体LDL胆固醇下降的LDL受体表达。这被认为是对HDL胆固醇和甘油三酯代谢二者中的FXR的独立调节作用。

[0018] 如注意到的,也已发现胆汁酸合成与2型糖尿病相关。大量因子可以有助于葡萄糖调节,包括对胆汁酸池尺寸和组成的影响、肝葡萄糖生产和肠道葡萄糖吸收中的FXR-介导的变化、对外周胰岛素敏感性的影响、肠促胰素作用和能量利用。不仅胆汁酸合成的调节可用于治疗糖尿病,其还可以在前期糖尿病的治疗的临床应用。

[0019] 胆汁酸吸收不良和腹泻

[0020] 由于例如,胆汁酸吸收不良导致的结肠中的胆汁酸的过量浓度,是慢性腹泻的病因。当大量的胆汁酸进入结肠时,它们刺激水分泌和肠道运动,引起慢性腹泻,一种称为胆汁酸腹泻(BAD)的病症。更特别地,当胆汁酸转运蛋白的肠道表达减少时,该肠道在胆汁酸再吸收方面效率低(1型胆汁酸吸收不良)。类似地,如果肠道运动受胃肠外科手术影响,或胆汁酸通过小肠细菌过度生长而脱离,吸收效率低(3型胆汁酸吸收不良)。还有极小组的患者,其不表现出任何明显的疾病征兆(2型胆汁酸吸收不良)。(通常参见,Walters等人,Clin.Gastroenterol Hepatol.7:1189-94(2009年11月))。

[0021] 胆汁郁积和原发性胆汁性肝硬化

[0022] 胆汁郁积的病症由肝内部或外部的胆汁排泄中的急性或慢性中断(通过,例如,堵塞)引起。不能形成胆汁导致进行性胆汁淤积性肝损伤和死亡。堵塞引起胆汁盐、胆色素胆红素和脂质在血流中累积而不是正常地清除。慢性胆汁郁积的症状包括皮肤变色、疤痕或由抓痒引起的皮肤损伤、骨痛、黄瘤或黄斑瘤。患有晚期胆汁郁积的患者感觉难受,容易疲劳,并且经常作呕。腹痛和这样的全身性症状如厌食症、呕吐,并且通常由于引起胆汁郁积的潜在病症所致发热。

[0023] 肝内胆汁郁积通常由肝炎或由产生类似肝炎症状的药物治疗引起。酚噻嗪衍生物药剂,包括氯丙嗪可以引起突然发热和炎症,尽管症状通常在中止所述药剂后消失。在罕见的情况下,类似慢性胆汁性肝硬化(在以下进一步讨论)的病症甚至在停止药物治疗后持续存在。一些患者响应于例如三环类抗抑郁药(例如,阿密曲替林和丙咪嗪)和苯基丁氮酮而经历类似反应。肝内胆汁郁积也可能具有其它病因,包括酒精性肝病、原发性胆汁性肝硬化和已转移的癌症。

[0024] 相比之下,肝外胆汁郁积有多种起源,包括作为某些药物之类的有害作用,外壳手术的并发症,严重损伤,组织破坏性感染,或静脉内营养法。肝外胆汁郁积可以由阻断胆汁从胆囊至十二指肠的流动(例如,通过堵塞总胆管的结石)的病症如肿瘤和胆结石引起。肝外胆汁郁积也可以由胰腺癌引起,并且较不常见地,作为总胆管的非癌性狭窄、导管癌或胰腺的疾病的结果引起。

[0025] 肝内和肝外胆汁郁积二者的症状包括黄疸、溺赤和白色粪便。如果病症是晚期,则皮肤上发痒可能严重。

[0026] 妊娠(ICP)的肝内胆汁郁积经常在妊娠的第二个和第三个三个月期期间发展,并且其是妊娠期间黄疸的第二个最常见病因。尽管症状通常在孩子出生后的二至四周内消失,但是如果母亲随后再次成为则它们可能再出现。类似的病症影响口服避孕药的一些妇女,但是症状在中止使用口服避孕药后消失。

[0027] 胆汁酸合成的先天性障碍是有时作为新生儿胆汁郁积存在的罕见遗传疾病。它的特征在于不能产生正常胆汁酸以及不常见胆汁酸和胆汁酸中间体的累积。如果没有诊断或者如果不正确诊断,则这样的先天性障碍可能导致肝功能衰竭或进行性慢性肝病。

[0028] 药物诱发的胆汁郁积可能是化学疗法或其他药物治疗的并发症。药物诱发的胆汁郁积的两种主要类型是特异质反应和直接毒性损伤。特异质反应可能在治疗开始时或之后发生。变态反应变化并且与采用的药物治疗的量有关。

[0029] 在直接毒性损伤中,症状的严重性与涉及的药物治疗的量平行。这种病症在治疗开始后短时间发展,接着是可预期模式,并且通常引起肝损伤。直接毒性反应在服用氯丙嗪的所有患者的1%中发展。

[0030] 良性家族性复发的胆汁郁积罕见病症的特征在于短暂的、重复的发痒和黄疸期,尽管该症状经常消失并且该病症不引起肝硬化。参见,总体地, Rose 等人, Cell Metabolism 14 (1) :123-30 (2011年7月)。

[0031] 原发性胆汁性肝硬化 (PBC) 是主要由将胆汁酸转运到肝外部的胆管的自身免疫性破坏(导致胆汁郁积)导致的进行性肝病。由于该疾病进行,所以胆汁酸的持续性毒性积聚引起由慢性炎症和纤维化标志物的进行性肝损伤。

[0032] 尽管PBC是罕见的,但是其是最常见的胆汁性肝病并且是美国肝移植的第五大最常见病因。大多数PBC患者在初始诊断时是无临床症状的,但是大多数随时间发展症状,如疲劳和瘙痒。黄疸可能有晚期疾病导致。尽管没有要求,但是可以使用肝活组织检查来确认PBC的诊断,并且经常监测胆红素以提供肝功能的指示。升高的ALP(一种响应于胆汁酸介导的毒性由肝细胞释放的酶)的血清水平通常在患者中密切监测作为治疗反应和预后的指示。

[0033] 尽管接收熊二醇(用于PBC的监护疗法的标准),但是处于晚期状态PBC的大部分患者进展至肝功能衰竭、移植或在五至十年内死亡。作为结果,备选的疗法在当前被评价。一种潜在有希望的药剂是OCA,是衍生自初级人胆汁酸鹅去氧胆酸的胆汁酸类似物或FXR激动剂,或CDCA。OCA对于对熊二醇具有不足治疗反应或不能耐受熊二醇的患者进行评价(Intercept Pharmaceuticals, New York)。

[0034] 原发性硬化性胆管炎

[0035] 原发性硬化性胆管炎是慢性纤维化炎症过程,其导致胆道系统的破坏和胆汁性肝硬化。在高于80%的患者中狭窄位于肝内和肝外导管中,但约这些患者的约10%仅具有肝内狭窄,而低于5%将仅具有肝外狭窄。缓解和再发表征病程。尽管原发性硬化性胆管炎的病因是未知的,但是据信,对胆道的损害通过免疫调节的遗传异常、病毒感染、来自肠道细菌的毒素、门静脉系统中的细菌、缺血性血管损伤和来自肠道细菌的有毒胆汁酸中的一种或多种发生。

[0036] 患有原发性硬化性胆管炎的大部分患者具有潜在的炎症性肠疾病(溃疡性结肠炎或克劳恩病)。相比于克劳恩病,患者更有可能具有溃疡性结肠炎(85%对15%),其中大约2.5-7.5%的所有溃疡性结肠炎患者具有原发性硬化性胆管炎。原发性硬化性胆管炎在一些患者中可以长时间保持休眠;然而,在大多数情况下,其是进行性的。

[0037] 在美国,原发性硬化性胆管炎的患病率为大约1-6例/100,000人口,并且绝大多数是高加索人(Caucasian)。患有原发性硬化性胆管炎的患者中的大约75%在诊断时是平均年龄为大约40岁的男人。这种疾病在早期阶段的管理包括使用药物来阻止疾病进展。内窥镜和手术方法保留到当症状发展时的时间。可能最终需要肝移植并且提供完全治愈的仅有机会。患有原发性硬化性胆管炎的患者处于增高的胆管癌风险(10-15%)。

[0038] 患有原发性硬化性胆管炎的大多数患者不表现出症状并且通常通过在常规血液检测上对肝功能的异常生物化学试验的检测而被诊断。当症状发展时,它们是堵塞胆汁流的结果,并且包括黄疸、瘙痒、右上象限腹痛、发热和寒颤。症状还可以包括重量减轻和疲劳。患者可以许多年保持无症状,尽管存在病沉重期 (advanced disease),并且症状的发展通常表明存在病沉重期。

[0039] 诊断

[0040] 胆汁酸吸收不良易于通过SeHCAT (23-硒基-25-高-牛磺-胆酸(高胆酸牛磺酸硒或牛磺硒胆酸)) 核医学检验诊断。备选的诊断检验包括测量血清中的 7α -羟基-4-胆甾烯-3-酮,其是一种胆汁酸前体。

[0041] 治疗

[0042] 胆汁酸螯合剂(例如,消胆胺和考来替泊,其为粉末形式)是用来治疗胆汁酸吸收不良的主要药剂。不幸的是,许多患者不耐受消胆胺和考来替泊,经常由于树脂粉末的较差质地和味道。幸运的是,胆汁酸螯合剂考来维仑 (colesevelam) 可以片剂形式获得并且经常被更好耐受。

[0043] 所有胆汁酸螯合剂能够结合其他化合物,并且还可能的是,可能出现缺乏脂溶性维生素(A、D、E和K),需要施用维生素补充。

[0044] 置换和替代疗法也被证实可用于与胆汁酸体内稳态相关的某些疾病。在替代疗法中,改变循环胆汁酸的组成以降低内源性胆汁酸的细胞毒性或调节胆固醇代谢以降低胆汁性胆固醇分泌。反之,胆汁酸代替的目的是纠正胆汁酸缺陷。

[0045] 移位治疗 (Displacement Therapy)

[0046] 施用初级胆汁酸 (primary bile acid) 鹅去氧胆酸 (CDCA) 已显示降低胆汁性胆固醇分泌和胆结石的逐渐溶解。CDCA逐渐被熊去氧胆酸 (UDCA) 替代,因为后者不导致任何肝毒性。鹅去氧胆酸在人中是稍微肝毒性的,但在某些动物中,其是高度肝毒性的。尽管UDCA施用对于胆固醇胆囊结石溶解的有效性和安全性,但是由于腹腔镜胆囊切除术的成功,如今其并不经常使用,腹腔镜胆囊切除术对症状性疾病提供快速治愈。相反,医学治疗需要几个月的治疗,不总是溶解结石,并且随后在一些患者中逐渐复发。

[0047] UDCA治疗在患有原发性胆汁性肝硬化的患者中已显示改善的肝检验结果,可能包括多种机制的效果。UDCA治疗在其他胆汁郁积性病症,如与妊娠相关的胆汁郁积和与胃肠道外全面营养相关的胆汁郁积中也已显示有利的效果。

[0048] 替代治疗 (Replacement Therapy)

[0049] 胆汁酸替代用于胆汁酸生物合成的先天性障碍,通常利用鹅去氧胆酸 (CDCA) 或熊去氧胆酸 (UDCA) 和胆酸的混合物,来抑制细胞毒性胆汁酸前体的合成并恢复初级胆汁酸到肠肝循环的输入。

[0050] 在患有短肠综合征的患者中,胆汁酸缺陷在近侧小肠出现,导致受损的胶束增溶。加上减少的表面积和快速的过渡时间,这导致严重的脂肪吸收不良。胆酰肌氨酸 (胆酰基-N-甲基甘氨酸) 是一种合成的胆汁酸类似物,其在患有短肠综合征的患者中已显示增加脂质吸收,并且抵抗早期解离和脱羟基化。

[0051] 患有克劳恩回肠炎继发性的胆汁酸腹泻的患者利用糖皮质激素治疗有帮助。施用布地奈德和其他药剂,包括抗生素,在某些情况下是有用的。

[0052] 如上详述的,尽管替代疗法正在对熊二醇治疗反应不足或不能耐受熊二醇的患者进行评价,但PBC的治疗通常仍涉及需要施用熊二醇。

[0053] 因此,对于胆汁酸疾病的治疗存在需要,如前述疾病并且包括,但不限于:代谢综合征;脂质或葡萄糖紊乱;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积、包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,原发性胆汁性肝硬化(PBC)、原发性家族性肝内胆汁郁积(PFIC)(例如,进行性PFIC)、原发性硬化性胆管炎(PSC)、妊娠肝内胆汁郁积(PIC)、新生儿胆汁郁积、和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),以及肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病、包括回肠切除、炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎)、影响胆汁酸吸收的特征不在其他方面的疾病(特发性的),导致腹泻(例如,胆汁酸腹泻(BAD))和GI症状,以及GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常、如有助于非-酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝硬化和门静脉高压的那些;例如,在哺乳动物,如人类中。本发明满足这种需要并且提供相关益处。

[0054] 发明概述

[0055] 本发明部分地基于具有一种或多种活性,如胆汁酸体内稳态调节活性的FGF19肽序列的变体、FGF19和/或FGF21肽序列的融合体以及FGF19和/或FGF21肽序列的融合体(嵌合体)的变体。这样的FGF19和/或FGF21肽序列的变体和融合体(嵌合体)包括用于治疗胆汁酸有关或相关疾病的序列。这样的FGF19和/或FGF21肽序列的变体和融合体(嵌合体)还包括不实质性或显著地增加或诱发肝细胞癌(HCC)形成或HCC肿瘤发生的序列。这样的FGF19和/或FGF21肽序列的变体和融合体(嵌合体)进一步包括不诱导脂质分布(lipid profile)的显著升高或增加的序列。

[0056] 在一种实施方式中,调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病的方法或用途包括:施用嵌合肽序列,包含:a)N-末端区,其包含至少七个氨基酸残基,该N-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述N-末端区包含DSSPL或DASPH;和b)C-末端区,其包含SEQ ID NO:99[FGF19]的一部分,该C-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述C-末端区包含SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基16-29(WGDPIRLRHLYTSG; SEQ ID NO:169),其中W残基对应于所述C-末端区的第一氨基酸位置,从而调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病。

[0057] 在另一种实施方式中,调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病的方法或用途包括:施用嵌合肽序列,包含:a)N-末端区,其包含SEQ ID NO:100[FGF21]的一部分,该N-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述N-末端区包含氨基酸残基GQV,并且其中V残基对应于所述N-末端区的最后氨基酸位置;和b)C-末端区,其包含SEQ ID NO:99[FGF19]的一部分,该C-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述C-末端区包含SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基21-29RLRHLYTSG(SEQ ID NO:185),并且其中R残基对应于所述C-末端区的第一位置,从而调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病。

[0058] 在一个进一步的实施方式中,调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病的方法或用途包括:施用嵌合肽序列,包含:a)N-末端区,其包含SEQ ID NO:100[FGF21]的一部分,所述N-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述N-末端区包含SEQ

ID NO:100[FGF21]的至少5个连续的氨基酸,包括氨基酸残基GQV,并且其中V残基对应于所述N-末端区的最后氨基酸位置;和b)C-末端区,其包含SEQ ID NO:99[FGF19]的一部分,所述C-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述C-末端区包含SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基21-29RLRHLYTSG(SEQ ID NO:185),并且其中R残基对应于所述C-末端区的第一位置,从而调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病。

[0059] 在一个另外的实施方式中,调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病的方法或用途包括:施用肽序列,包含或由以下中的任一个组成:a)相比于参比或野生型FGF19,具有一个或多个氨基酸置换、插入或缺失的FGF19序列变体;b)相比于参比或野生型FGF21,具有一个或多个氨基酸置换、插入或缺失的FGF21序列变体;c)融合至FGF21序列的一部分的FGF19序列的一部分;或d)融合至FGF21序列的一部分的FGF19序列的一部分,其中相比于参比或野生型FGF19和/或FGF21,所述FGF19和/或FGF21序列部分具有一个或多个氨基酸置换、插入或缺失,从而调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病。

[0060] 在各种特定的实施方式中,嵌合肽序列具有N-末端区,该N-末端区具有SEQ ID NO:100[FGF21]的包括氨基酸残基GQ的至少6个连续氨基酸;或具有N-末端区,该N-末端区具有SEQ ID NO:100[FGF21]的包括氨基酸残基GQV的至少7个连续氨基酸。

[0061] 在各种另外的实施方式中,肽序列具有融合至SEQ ID NO:99[FGF19]的羧基-末端氨基酸21-194的SEQ ID NO:100[FGF21]的氨基-末端氨基酸1-16,或该肽序列具有融合至SEQ ID NO:100[FGF21]的羧基-末端氨基酸147-181的SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基-末端氨基酸1-147(M41),或该肽序列具有融合至SEQ ID NO:100[FGF21]的羧基-末端氨基酸17-181的SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基-末端氨基酸1-20(M44),或该肽序列具有融合至SEQ ID NO:99[FGF19]的羧基-末端氨基酸148-194的SEQ ID NO:100[FGF21]的氨基-末端氨基酸1-146(M45),或该肽序列具有融合至SEQ ID NO:100[FGF21]的内部氨基酸17-146或融合至SEQ ID NO:99[FGF19]的羧基-末端氨基酸148-194的SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基-末端氨基酸1-20(M46)。

[0062] 在各种进一步的实施方式中,肽序列具有对SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基125-129EIRPD的至少一个氨基酸置换;对SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基126-128IRP的至少一个氨基酸置换;或对SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基127-128RP的至少一个氨基酸置换,或对SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基1-124和/或对SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基130-194的至少一个氨基酸置换。更具体地,例如,具有对SEQ ID NO:99[FGF19]的氨基酸残基127-128IRP中的一个的置换的肽序列,其中至少一个氨基酸置换是R127L或P128E。

[0063] 本发明的方法和用途可以利用如本文所述的肽或嵌合序列实施。例如,包括本文所述的M1至M98、或M101至M160、或SEQ ID NO:1至98、101至135或138至196的任意肽序列或由其组成的序列,包括在表1-10中所述的任意序列或由其组成的肽序列,或包括在本文序列表中所述的任意序列或由其组成的序列。

[0064] 本发明的方法和用途可以利用任何合适长度的肽或嵌合序列实施。在特定的实施方式中,所述肽或嵌合序列的N-末端或C-末端区的长度为约20至约200个氨基酸残基。在其他特定方面,肽或嵌合序列具有自氨基末端、羧基-末端或内部的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个氨基酸缺失。在进一步的特定实施方式中,肽

或嵌合序列具有N-末端区或C-末端区,该N-末端区或C-末端区包括约5至10、10至20、20至30、30至40、40至50、60至70、70至80、80至90、90至100个或更多个氨基酸的氨基酸序列或由其组成。在另外的更特定实施方式中,肽或嵌合序列具有FGF19序列部分或FGF21序列部分,该FGF19序列部分或FGF21序列部分包括约5至10、10至20、20至30、30至40、40至50、50至60、60至70、70至80、80至90、90至100个或更多个的FGF19或FGF21的氨基酸的氨基酸序列或由其组成。

[0065] 在不同的方面,肽序列具有:WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列基序,其对应于SEQ ID NO:99 [FGF19] 的氨基酸16-20的WGDPI序列;具有置换的、突变的或缺失的WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列基序,其对应于FGF19的氨基酸16-20的FGF19 WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列;具有WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列,其具有一个或多个氨基酸置换、突变或缺失。在各个其他的进一步方面,所述肽序列不同于FGF 19变体序列,该FGF 19变体序列在氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171) 、WGDPV (SEQ ID NO:172) 、WGDI (SEQ ID NO:173) 、GDPI (SEQ ID NO:174) 、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175) 、WGAPI (SEQ ID NO:176) 、AGDPI (SEQ ID NO:177) 、WADPI (SEQ ID NO:178) 、WGDAI (SEQ ID NO:179) 、WGDP (SEQ ID NO:180) 、WDPI (SEQ ID NO:181) 、WGDI (SEQ ID NO:182) 、WGDP (SEQ ID NO:183) 或FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换FGF19 WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列。

[0066] 在各种进一步的方面,N-末端区包含氨基酸残基VHYG (SEQ ID NO:101) ,其中所述N-末端区包含氨基酸残基DASPHVHYG (SEQ ID NO:102) ,或所述N-末端区包含氨基酸残基DSSPLVHYG (SEQ ID NO:103) 。更特别地,在一个方面,G对应于所述N-末端区的最后位置。

[0067] 在各种另外的方面,N-末端区包含氨基酸残基DSSPLLQ (SEQ ID NO:104) ,其中Q残基是所述N-末端区是最后氨基酸位置,或包含氨基酸残基DSSPLLQFGGQV (SEQ ID NO:105) ,其中V残基对应于所述N-末端区的最后位置。

[0068] 更特别地,N-末端区进一步包括:RHPIP (SEQ ID NO:106) ,其中R是所述N-末端区的第一氨基酸位置;或HPIP (SEQ ID NO:107) ,其中H是所述N-末端区的第一氨基酸位置;或RPLAF (SEQ ID NO:108) ,其中R是所述N-末端区的第一氨基酸位置;或PLAF (SEQ ID NO:109) ,其中P是所述N-末端区的第一氨基酸位置;或R,其中R是所述N-末端区的第一氨基酸位置。

[0069] 在各种其他方面中,肽或嵌合序列具有:氨基酸残基HPIP (SEQ ID NO:107) ,其是所述N-末端区的前4个氨基酸残基。在各种仍然进一步的方面,肽或嵌合序列具有:在N-末端区的第一位置的R残基,或所述N-末端区的第一位置是M残基,或所述N-末端区的第一和第二位置是MR序列,或所述N-末端区的第一和第二位置是RM序列,或所述N-末端区的第一和第二位置是RD序列,或所述N-末端区的第一和第二位置是DS序列,或所述N-末端区的第一和第二位置是MD序列,或所述N-末端区的第一和第二位置是MS序列,或所述N-末端区的第一至第三位置是MDS序列,或所述N-末端区的第一至第三位置是RDS序列,或所述N-末端区的第一至第三位置是MSD序列,或所述N-末端区的第一至第三位置是MSS序列,或所述N-末端区的第一至第三位置是DSS序列,或其中所述N-末端区的第一至第四位置是RDSS (SEQ ID NO:115) 序列,或其中所述N-末端区的第一至第四位置是MDSS (SEQ ID NO:116) 序列,或所述N-末端区的第一至第五位置是MRDSS (SEQ ID NO:117) 序列,或所述N-末端区的第一至第五位置是MSSPL (SEQ ID NO:113) 序列,或所述N-末端区的第一至第六位置是MDSSPL (SEQ

ID NO:110)序列,或所述N-末端区的第一至第七位置是MSDSSPL (SEQ ID NO:111)序列。

[0070] 在各种其他特定方面,肽或嵌合序列具有在N-末端区第一氨基酸位置的“M”残基、“R”残基、“S”残基、“H”残基、“P”残基、“L”残基或“D”残基。在各种备选的特定方面,肽或嵌合序列肽序列在所述N-末端区的第一氨基酸位置不具有“M”残基或“R”残基。

[0071] 在进一步的各个其他方面,肽或嵌合序列具有N-末端区,该N-末端区具有以下序列中的任一个:MDSSPL (SEQ ID NO:110)、MSDSSPL (SEQ ID NO:111)、SDSSPL (SEQ ID NO:112)、MSSPL (SEQ ID NO:113)或SSPL (SEQ ID NO:114)。

[0072] 在各个仍然另外的方面,肽或嵌合序列具有在所述C-末端区的最后位置的对应于SEQ ID NO:99 [FGF19]的大约残基194的残基。

[0073] 在各个更特定的方面,肽序列具有以下序列中的任一个或由其组成:

[0074] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M3) (SEQ ID NO:3) ;

[0075] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIREDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M140) (SEQ ID NO:194) ;

[0076] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRQRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M160) (SEQ ID NO:196) ;

[0077] RDSSPLVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGV
HSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPM
VPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M69) (SEQ ID NO:69) ;

[0078] RDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHS
VRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVP
EEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M52) (SEQ ID NO:52) ;

[0079] RHIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIK
GVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFE EEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPM
LPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M5) (SEQ ID NO:5) ;

[0080] HPIPDSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKG
VHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPM
MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M5-R) (SEQ ID NO:160) ;

[0081] HPIPDSPLLQFGGQVQRQLYLTDDAQQTTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHSLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPP
ALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS (M71) (SEQ ID NO:71) ;HPIPDSPLLQFGGQVQRQLY
LYTDDAQQTTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSF
RELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGP
SQGRSPSYAS (M72) (SEQ ID NO:72) ;

[0082] HPIPDSPLLQFGGQVQRQLYLTDDAQQTTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPP

ALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVVQDELQVGEGCHMHPENCTLTDIDRTHTEKPVWDGITGE (M73) (SEQ ID NO:73) ;

[0083] RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTV AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M1) (SEQ ID NO:1或139) ;

[0084] RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTV AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M2) (SEQ ID NO:2或140) ;

[0085] RDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTVAIKGVHS VRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMV EEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M48) (SEQ ID NO:48或6或148) ;

[0086] RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTVAI KGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM LPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M49) (SEQ ID NO:49或7或149) ;

[0087] RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTVAIK GVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFE EEILEDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM LPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M50) (SEQ ID NO:50) ;

[0088] RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTVAIK GVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM PMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M51) (SEQ ID NO:51或36或155) ;

[0089] MDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTVAIKGVHS VRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMV EEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M53) (SEQ ID NO:192) ;

[0090] MRDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTVAIKG VHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP MVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDS16MDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M70) (SEQ ID NO:70) ;

[0091] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTV AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M139) (SEQ ID NO:193) ;或

[0092] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLEIKAVALRTV AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILCDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGVTGLEAVRSPSFEK (M141) (SEQ ID NO:195) ;

[0093] 或前述肽序列中的任一个的子序列或其片段。在前述肽序列中的任一个的某些实施方式中, R末端残基缺失。

[0094] 在各种另外的特定方面, 所述肽序列的N-末端包括以下中的任一个或由其组成:

[0095] HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M5-R) (SEQ ID NO:160的氨基酸1-25) ;

[0096] DSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M6-R) (SEQ ID NO:6的氨基酸2-22) ;

[0097] RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M7) (SEQ ID NO:7的氨基酸1-27) ;

[0098] HPIPDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M8-R) (SEQ ID NO:8的氨基酸2-26) ;

- [0099] HPIPDSSPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M9-R) (SEQ ID NO:9的氨基酸2-28)；
[0100] HPIPDSSPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG (M10-R) (SEQ ID NO:10的氨基酸2-28)；
[0101] RPLAFSDAGPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M11) (SEQ ID NO:11的氨基酸1-27)；
[0102] RPLAFSDAGPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M12) (SEQ ID NO:12的氨基酸1-29)；
[0103] RPLAFSDAGPLLQFGQVRLRHLYTSG (M13) (SEQ ID NO:13的氨基酸1-27)；
[0104] HPIPDSSPHVHYGGQVRLRHLYTSG (M14-R) (SEQ ID NO:14的氨基酸2-26)；
[0105] RPLAFSDAGPHVHYGGQVRLRHLYTSG (M15) (SEQ ID NO:15的氨基酸1-27)；
[0106] RPLAFSDAGPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M16) (SEQ ID NO:16的氨基酸1-27)；
[0107] RPLAFSDAGPHVGWGDPIRLRHLYTSG (M17) (SEQ ID NO:17的氨基酸1-27)；
[0108] RPLAFSDAGPHYGWGDPIRLRHLYTSG (M18) (SEQ ID NO:18的氨基酸1-27)；
[0109] RPLAFSDAGPVYGWGDPIRLRHLYTSG (M19) (SEQ ID NO:19的氨基酸1-27)；
[0110] RPLAFSDAGPVHGWGDPIRLRHLYTSG (M20) (SEQ ID NO:20的氨基酸1-27)；
[0111] RPLAFSDAGPVHYWGDPPIRLRHLYTSG (M21) (SEQ ID NO:21的氨基酸1-27)；
[0112] RPLAFSDAGPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M22) (SEQ ID NO:22的氨基酸1-27)；
[0113] RPLAFSDAGPHHGWDPIRLRHLYTSG (M23) (SEQ ID NO:23的氨基酸1-27)；
[0114] RPLAFSDAGPHHYWGDPPIRLRHLYTSG (M24) (SEQ ID NO:24的氨基酸1-27)；
[0115] RPLAFSDAGPHVYWGDPPIRLRHLYTSG (M25) (SEQ ID NO:25的氨基酸1-27)；
[0116] RPLAFSDSSPLVHWGDPIRLRHLYTSG (M26) (SEQ ID NO:26的氨基酸1-27)；
[0117] RPLAFSDSSPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M27) (SEQ ID NO:27的氨基酸1-27)；
[0118] RPLAFSDAGPHVWGDPIRLRHLYTSG (M28) (SEQ ID NO:28的氨基酸1-26)；
[0119] RPLAFSDAGPHVHYWGDPPIRLRHLYTSG (M29) (SEQ ID NO:29的氨基酸1-28)；
[0120] RPLAFSDAGPHVHYAWGDPIRLRHLYTSG (M30) (SEQ ID NO:30的氨基酸1-29)；
[0121] RHPIPDSSPLLQFGAQVRLRHLYTSG (M31) (SEQ ID NO:31的氨基酸1-26)；
[0122] RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSG (M32) (SEQ ID NO:32的氨基酸1-26)；
[0123] RHPIPDSSPLLQFGPQVRLRHLYTSG (M33) (SEQ ID NO:33的氨基酸1-26)；
[0124] RHPIPDSSPLLQFGGAVRLRHLYTSG (M34) (SEQ ID NO:34的氨基酸1-26)；
[0125] RHPIPDSSPLLQFGGEVRLRHLYTSG (M35) (SEQ ID NO:35的氨基酸1-26)；
[0126] RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSG (M36) (SEQ ID NO:36的氨基酸1-26)；
[0127] RHPIPDSSPLLQFGGQARLRHLYTSG (M37) (SEQ ID NO:37的氨基酸1-26)；
[0128] RHPIPDSSPLLQFGGQIRLRHLYTSG (M38) (SEQ ID NO:38的氨基酸1-26)；
[0129] RHPIPDSSPLLQFGGQTRLRHLYTSG (M39) (SEQ ID NO:39的氨基酸1-26)；
[0130] RHPIPDSSPLLQFGWGQPVRLRHLYTSG (M40) (SEQ ID NO:40的氨基酸1-28)；
[0131] DAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG (M74-R) (SEQ ID NO:74的氨基酸2-24)；
[0132] VHYGWGDPIRLRHLYTSG (M75-R) (SEQ ID NO:75的氨基酸2-19)；
[0133] RLRHLYTSG (M77-R) (SEQ ID NO:77的氨基酸2-10)；
[0134] RHPIPDSSPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M9) (SEQ ID NO:9的氨基酸1-28)；
[0135] RHPIPDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M8) (SEQ ID NO:8的氨基酸1-26)；
[0136] RPLAFSDAGPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M12) (SEQ ID NO:12的氨基酸1-29)；
[0137] RHPIPDSSPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG (M10) (SEQ ID NO:10的氨基酸1-28)；

- [0138] RPLAFSDAGPLLQFGGVQLRHLYTSG (M13) (SEQ ID NO:13的氨基酸1-27)；
- [0139] RHPIDSSPHVHYGGQVQLRHLYTSG (M14) (SEQ ID NO:14的氨基酸1-26)；
- [0140] RPLAFSDAGPHVHYGGDIRLRHLYTSG (M43) SEQ ID NO:43的氨基酸1-27)；或
- [0141] RDSSPLLQFGGVQLRHLYTSG (M6) (SEQ ID NO:6的氨基酸1-22)。
- [0142] 在各个进一步的特定方面,肽序列包括以下各项或由其组成:
- [0143] HPIPDSPLLQFGGVQLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMLVPEPEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:160)；
- [0144] DSSPLLQFGGVQLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:138或161)；
- [0145] RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEPEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:1或139)；
- [0146] RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEPEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:2或140)；or
- [0147] DSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEPEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:141)；
- [0148] 或前述肽序列中的任一个的子序列或其片段。在前述肽序列中的任一个的某些实施方式中,R末端残基缺失。
- [0149] 在各种仍然另外的特定方面,肽序列包括在C-末端插入SEQ ID NO:99 [FGF19]的氨基酸残基30-194,产生嵌合多肽。
- [0150] 在各种进一步的实施方式中,肽或嵌合序列具有氨基酸置换、添加、插入或具有至少一个氨基酸缺失的子序列。这样的肽序列的氨基酸置换、添加、插入和缺失可以例如在N-或C-末端或内部的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个氨基酸残基(10-20、20-30、30-40、40-50等)。例如,具有从氨基末端、羧基-末端或内部的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20个或更多个氨基酸缺失的子序列。在一个特定的方面,所述氨基酸置换或缺失在FGF19的氨基酸位置8-20 (AGPHVHYGWGDPI) (SEQ ID NO:187)。
- [0151] 在各种仍然更特定的方面,肽或嵌合序列包括所述的以下的FGF19序列的全部或一部分:
- [0152] PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEPEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSDMPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:188),位于该肽的C-末端,或氨基末端“R”残基从该序列缺失。
- [0153] 在各种实施方式中,肽或嵌合序列具有大于或小于对比序列的功能或活性。在特定的实施方式中,肽序列相比于FGF19或FGF 19变体序列具有减少的HCC形成,该FGF 19变体序列在FGF19的氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDPV (SEQ ID NO:173)或GDI (SEQ ID NO:174)替换。

NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或 FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换 FGF19 WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列; 或相比于 FGF19 或 FGF 19 变体序列具有更大的葡萄糖降低活性, 该 FGF 19 变体序列在 FGF19 的氨基酸 16-20 处具有用 GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或 FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换 FGF19 WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列; 相比于 FGF19 或 FGF 19 变体序列具有较低的脂质增加活性, 该 FGF 19 变体序列在 FGF19 的氨基酸 16-20 处具有用 GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或 FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换 FGF19 WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列; 或相比于 FGF19 或 FGF 19 变体序列具有较低的甘油三酯、胆固醇、非-HDL 或 HDL 增加活性, 该 FGF 19 变体序列在 FGF19 的氨基酸 16-20 处具有用 GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或 FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换 FGF19 WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列; 或相比于 FGF19 或 FGF 19 变体序列具有较低的瘦体质量减少活性。这样的功能和活性可以例如在 db/db 小鼠中在体外或体内确定。

[0154] 在另外的各种实施方式中, 肽或嵌合序列对气体分子的功能或活性具有作用。在一个方面, 肽序列保持或增大 FGFR4 介导的活性。在另一个方面, 肽序列结合至成纤维细胞生长因子受体 4 (FGFR4) 或激活 FGFR4, 或不是可检测地结合至 FGFR4 或激活 FGFR4。在一个另外的方面, 肽序列以低于、相当于或大于 FGF19 对 FGFR4 的结合亲和力的亲和力结合至 FGFR4。在一个进一步的方面, 肽序列激活 FGFR4 至低于、相当于或大于 FGF19 激活 FGFR4 的程度或量。

[0155] 在进一步另外的各种实施方式, 肽或嵌合序列包括一个或多个 L-氨基酸、D-氨基酸、非天然存在氨基酸, 或氨基酸模拟物、衍生物或类似物。在仍然进一步的各种实施方式中, 肽或嵌合序列通过接头或间隔区接合的 N-末端区, 或 C-末端区, 或 FGF19 序列部分, 或 FGF21 序列部分。

[0156] 在仍然另外的实施方式中, 嵌合肽或肽序列包含在药物组合物中, 该组合物又可以用于实施本发明的方法和用途。这样的组合物包括无活性或其他活性成分的组合物。在一种实施方式中, 组合物, 如药物组合物包括嵌合肽序列或肽序列和改善胆汁酸体内稳态的药剂。

[0157] 还提供了包括施用或递送嵌合肽或肽序列的治疗的用途和方法。在特定的实施方式中, 受试者的治疗的用途或方法包括向受试者, 如具有通过本发明肽序列可治疗的疾病

或具有该疾病的风险的受试者施用发明嵌合肽或肽序列,其量为有效用于治疗疾病。在一个进一步的实施方式中,方法或用途包括向受试者,如具有胆汁酸相关或有关疾病的受试者施用本发明嵌合肽或肽序列。

[0158] 在本发明方法和用途的特定方面,嵌合肽序列或肽序列以有效改善或提供胆汁酸体内稳态的量施用至受试者。根据本发明方法和用途可治疗的非限制性示例性胆汁酸相关或有关疾病包括:代谢综合征;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积、和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),和肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病、包括回肠切除、炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎)、特征(特应性)不在于导致腹泻(例如,BAD)和GI症状的影响胆汁酸吸收的疾病,和GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常、如促进NASH、肝硬化和门静脉高压的那些。在一种实施方式中,胆汁酸相关或有关疾病是胆汁酸吸收不良。在另一种实施方式中,胆汁酸相关或有关疾病是腹泻。在另一种实施方式中,胆汁酸相关或有关疾病是胆汁郁积(例如,肝内或肝外胆汁郁积)。在另一种实施方式中,胆汁酸相关或有关疾病是原发性胆汁性肝硬化。在另一种实施方式中,胆汁酸相关或有关疾病是原发性硬化性胆管炎。在另一种实施方式中,胆汁酸相关或有关疾病是PFIC(例如,进行性PFIC)。

[0159] 还提供了分析和/或鉴别嵌合肽序列或肽序列的方法和用途,如调节胆汁酸体内稳态的嵌合肽序列和肽序列,任选地在不具有实质性或显著的HCC活性的情况下。在一种实施方式中,方法或用途包括:a) 提供候选肽序列;b) 将该候选肽序列施用至试验动物;c) 在施用所述候选肽序列后测量动物的胆汁酸水平,以确定该候选肽序列是否调节胆汁酸体内稳态;和d) 分析该候选肽序列在动物中对HCC的诱导,或与HCC活性相关的标志物的表达。候选肽调节胆汁酸体内稳态但不具有实质性HCC活性,由此鉴别该候选肽序列为具有调节胆汁酸体内稳态同时没有显著HCC活性的肽序列。

[0160] 在一个特定方面,还对嵌合肽序列或肽序列分析在动物中的HCC的诱导(例如,评估来自试验动物的肝组织样品),或与HCC活性相关的标志物的表达。这样的方法和用途将该候选鉴别为具有胆汁酸体内稳态调节活性,任选地还没有实质性或显著的HCC活性。

附图说明

[0161] 图1示出了用指定浓度的FGF19和FGF21 (SEQ ID N0s:99和100) 腹膜内用药的db/db小鼠中的cyp7a1表达。

[0162] 图2A-2D示出了在服药以下各项后在人原代肝细胞中的cyp7a1表达:A) 变体M1 (SEQ ID NO:1);B) 变体M2 (SEQ ID NO:2);C) 变体M5 (SEQ ID NO:5);和D) 变体M32 (SEQ ID NO:32)。

[0163] 图3A-3D示出了在服药以下各项后在人原代肝细胞中的cyp7a1表达:A) 变体M69 (SEQ ID NO:69);B) 变体M75 (SEQ ID NO:75);C) 变体M70 (SEQ ID NO:70);和D) 变体M76 (SEQ ID NO:76)。

[0164] 图4A-4D示出了在服药以下各项后在人原代肝细胞中的cyp7a1表达:A) 变体M85 (SEQ ID NO:85);B) 变体M96 (SEQ ID NO:96);C) 变体M90 (SEQ ID NO:90);和D) 变体M98

(SEQ ID NO:98)。

[0165] 图5是示出了以下指定变体相对cyp7a1表达和HCC核的的cyp7a1IC₅₀ (pM) 的表格：M1、M2、M5、M32、M69、M70、M75、M76、M85、M90、M96和M98。

[0166] 图6示出了人临床试验的结果,表明相比于安慰剂,施用M70能够抑制7a-羟基-4-胆甾烯-3-酮(C4),一种胆汁酸合成的标志物。

[0167] 图7示出了L6细胞中的FGFR4/β-klotho复合物的表达使得有可能通过FGF19、M3和M70激活细胞内信号传导途径。

[0168] 详述

[0169] 本发明提供嵌合和肽序列,其调节胆汁酸体内稳态并且能够治疗胆汁酸有关或相关疾病。在一种实施方式中,嵌合肽序列包括以下或由其组成:具有至少七个氨基酸残基的N-末端区,并且该N-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述N-末端区具有DSSPL (SEQ ID NO:121) 或DASPH (SEQ ID NO:122) 序列;和C-末端区具有FGF19的一部分,并且该C-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中实施C-末端区包括FGF19的氨基酸残基16-29 (WGDPIRLRHLYTSG; SEQ ID NO:169) 并且W残基对应于所述C-末端区的第一氨基酸位置。

[0170] 在另一种实施方式中,嵌合肽序列包括以下或由其组成:具有FGF21的一部分的N-末端区,并且该N-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述N-末端区具有GQV序列并且V残基对应于所述N-末端区的最后氨基酸位置;和具有FGF19的一部分的C-末端区并且该C-末端区具有第一氨基酸位置和最后氨基酸位置,其中所述C-末端区包括FGF19的氨基酸残基21-29 (RLRHLYTSG; SEQ ID NO:185) 并且R残基对应于所述C-末端区的第一位置。

[0171] 在进一步的实施方式中,肽序列包括相比于参比或野生型FGF19具有一个或多个氨基酸置换、插入或缺失的FGF19序列变体或由其组成。在另外的实施方式中,肽序列包括相比于参比或野生型FGF21具有一个或多个氨基酸置换、插入或缺失的FGF21序列变体或由其组成。在还是另外的实施方式中,肽序列包括融合至FGF21序列的一部分的FGF19序列的一部分或由其组成。在仍然另外的实施方式中,肽序列包括融合至FGF21序列的一部分的FGF19序列的一部分或由其组成,其中该FGF19和/或FGF21序列部分具有相比于参比或野生型FGF19和/或FGF21的一个或多个氨基酸置换、插入或缺失。

[0172] 本发明还提供治疗具有使用FGF19和/或FGF21肽序列的变体和融合体可治疗的疾病或处于具有该疾病的风险的受试者的方法和用途。在一种实施方式中,方法或用途包括使受试者接触或向受试者施用有效治疗胆汁酸有关或相关疾病的量的一种或多种变体或融合体FGF19和/或FGF21肽序列。在另一种实施方式中,方法或用途包括使受试者接触或向受试者施用有效治疗胆汁酸有关或相关疾病的量的一种或多种编码变体或融合体FGF19和/或FGF21肽序列的核酸分子(例如,与编码所述肽序列的核酸可操作连接的表达控制元件,任选地包括载体)。

[0173] 代表性参比或野生型FGF19序列所述的:

[0174] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:99)。

[0175] 代表性参比或野生型FGF21序列所述的：

[0176] HPIPDSPLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLGLPP
ALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO:100)。FGF21等位基因变体包括,例如,M70、M71和M72。

[0177] 术语“肽”、“蛋白质”和“多肽”序列在本文中可互换使用来指两个或更多个氨基酸或“残基”,包括通过酰胺键或等同物共价连接的氨基酸的化学改性和衍生物。形成肽的全部或部分的氨基酸可以来自已知的21种天然存在氨基酸,其通过它们的单个字母缩写或共同三个字母缩写提及。在本发明的肽序列中,常规氨基酸残基具有其常规含义。因此,“Leu”是亮氨酸,“Ile”是异亮氨酸,“Nle”正亮氨酸等。

[0178] 本文例示的是不同于本文所述的参比FGF19和FGF21多肽的肽序列,其在体内调节胆汁酸体内稳态(例如,表1-10和序列表)。非限制性的特定实例是具有融合至FGF19的羧基-末端氨基酸21-194的FGF21的氨基-末端氨基酸1-16的肽序列;具有融合至FGF21的羧基-末端氨基酸147-181的FGF19的氨基-末端氨基酸1-147的肽序列;具有融合至FGF21的羧基-末端氨基酸17-181的FGF19的氨基-末端氨基酸1-20的肽序列;具有融合至FGF19的羧基-末端氨基酸148-194的FGF21的氨基-末端氨基酸1-146的肽序列;和具有融合至FGF19的羧基-末端氨基酸148-194的FGF21的内部氨基酸17-146的FGF19的氨基-末端氨基酸1-20的肽序列。

[0179] 另外的特定肽序列具有对应于FGF19 (SEQ ID NO:99) 的氨基酸16-20的WGDP序列的WGDP (SEQ ID NO:170) 序列基序,缺少对应于FGF19 (SEQ ID NO:99) 的氨基酸16-20的WGDP序列的WGDP (SEQ ID NO:170) 序列基序,或具有对应于FGF19 (SEQ ID NO:99) 的氨基酸16-20的FGF19WGDP序列的置换的(即,突变的)WGDP (SEQ ID NO:170) 序列基序。

[0180] 本发明的特定肽序列还包括不同于FGF19和FGF21(例如,如本文所述的)以及FGF19变体序列的序列,该FGF19变体序列在氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换FGF19 WGDP (SEQ ID NO:170) 序列。因此,野生型FGF19和FGF21(例如,如本文中分别所述的SEQ ID NO:99和100)可以是被排除的序列,并且以下的FGF19变体序列也可以被排除,其中该FGF19变体序列在氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换FGF19 WGDP (SEQ ID NO:170) 序列。然而,这种排除不适用于以下情况,其中序列具有,例如,融合至具有,例如,GQV、GQV、GDI或GPI中的任一个的FGF19的3个FGF21残基,或融合至WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182),或WGDP (SEQ ID NO:183) 中的任一个的2个FGF21残基。

[0181] 肽序列的特定非限制性实例包括在本文中指定为M1-M98 (分别是SEQ ID NO:1-52, 192和54-98) 的序列变体的全部或一部分或由其组成。肽序列的更特定的非限制性实例包括所述的如下的序列的全部或一部分或由其组成:

[0182] HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (M5-R) (SEQ ID NO:160) (FGF21序列也可以包括在氨基末端的“R”残基) ;

[0183] DSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:138和161) ;

[0184] RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (M1) (SEQ ID NO:1或139) ;

[0185] RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (M2) (SEQ ID NO:2或140) ;

[0186] DSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:141) ;

[0187] RDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (M69) (SEQ ID NO:69) ;

[0188] RDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (M52) (SEQ ID NO:52) ;

[0189] HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (M5-R) (SEQ ID NO:160) ;

[0190] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGVNVYQSEAHSLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS (M71) (SEQ ID NO:71) ;

[0191] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGVNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVQDELQVGEGCHMHPENCKLLTDIDRTHTEKPVWDGITGE (M72) (SEQ ID NO:72) ;

[0192] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGVNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVQDELQVGEGCHMHPENCKLLTDIDRTHTEKPVWDGITGE (M73) (SEQ ID NO:73) ;

[0193] RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHRLPVSLSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK (M1) (SEQ ID NO:1或139) ;

AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M3) (SEQ ID NO:3) ;

[0194] RDSSPLLQFGGVQLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHS
VRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPVP
EEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M48) (SEQ ID NO:48, 6或148) ;

[0195] RPLAFSDSSPLLQFGGVQLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAI
KGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
LPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M49) (SEQ ID NO:49, 7或149) ;

[0196] RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIK
GVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
PMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M50) (SEQ ID NO:50) ;

[0197] RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIK
GVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
PMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M51) (SEQ ID NO:51, 36或155) ;

[0198] MDSSPLLQWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHS
VRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPVP
EEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M53) (SEQ ID NO:192) ;

[0199] MRDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKG
VHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP
MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M70) (SEQ ID NO:70) ;

[0200] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILPDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M139) (SEQ ID NO:193) ;

[0201] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIREDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M140) (SEQ ID NO:194) ;

[0202] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILCDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M141) (SEQ ID NO:195) ;或

[0203] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRQRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHLRVLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
LPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK

[0204] (M160) (SEQ ID NO:196) ;

[0205] 或前述肽序列中的任一个的子序列或其片段。在前述肽序列的任一个的某些实施方式中，R末端残基缺失。

[0206] 肽序列的另外的特定非限制性实例在N-末端具有包括以下中的任一个的全部或一部分或由其组成的肽序列：

[0207] HPIPDSPLQFGGVQLRHLYTSG (M5-R) (SEQ ID NO:160的氨基酸1-25) ;

[0208] DSSPLLQFGGVQLRHLYTSG (M6) (M6-R) (SEQ ID NO:6的氨基酸2-22) ;

- [0209] RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M7) (SEQ ID NO:7的氨基酸1-27)；
- [0210] HPIPDSPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M8-R) (SEQ ID NO:8的氨基酸2-26)；
- [0211] HPIPDSPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M9-R) (SEQ ID NO:9的氨基酸2-28)；
- [0212] HPIPDSSPHVHYGWGDPPIRLRHLYTSG (M10-R) (SEQ ID NO:10的氨基酸2-28)；
- [0213] RPLAFSDAGPLLQWGDPIRLRHLYTSG (M11) (SEQ ID NO:11的氨基酸1-27)；
- [0214] RPLAFSDAGPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M12) (SEQ ID NO:12的氨基酸1-29)；
- [0215] RPLAFSDAGPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M13) (SEQ ID NO:13的氨基酸1-27)；
- [0216] HPIPDSSPHVHYGGQVRLRHLYTSG (M14-R) (SEQ ID NO:14的氨基酸2-26)；
- [0217] RPLAFSDAGPHVHYGGQVRLRHLYTSG (M15) (SEQ ID NO:15的氨基酸1-27)；
- [0218] RPLAFSDAGPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M16) (SEQ ID NO:16的氨基酸1-27)；
- [0219] RPLAFSDAGPHVGWGDPIRLRHLYTSG (M17) (SEQ ID NO:17的氨基酸1-27)；
- [0220] RPLAFSDAGPHYGWGDPIRLRHLYTSG (M18) (SEQ ID NO:18的氨基酸1-27)；
- [0221] RPLAFSDAGPVYWGDPPIRLRHLYTSG (M19) (SEQ ID NO:19的氨基酸1-27)；
- [0222] RPLAFSDAGPVHGWGDPIRLRHLYTSG (M20) (SEQ ID NO:20的氨基酸1-27)；
- [0223] RPLAFSDAGPVHYWGDPPIRLRHLYTSG (M21) (SEQ ID NO:21的氨基酸1-27)；
- [0224] RPLAFSDAGPHVHGWDPIRLRHLYTSG (M22) (SEQ ID NO:22的氨基酸1-27)；
- [0225] RPLAFSDAGPHHGWDPIRLRHLYTSG (M23) (SEQ ID NO:23的氨基酸1-27)；
- [0226] RPLAFSDAGPHHYWGDPPIRLRHLYTSG (M24) (SEQ ID NO:24的氨基酸1-27)；
- [0227] RPLAFSDAGPHVYWGDPPIRLRHLYTSG (M25) (SEQ ID NO:25的氨基酸1-27)；
- [0228] RPLAFSDSSPLVHWGDPIRLRHLYTSG (M26) (SEQ ID NO:26的氨基酸1-27)；
- [0229] RPLAFSDSSPHVHWGDPIRLRHLYTSG (M27) (SEQ ID NO:27的氨基酸1-27)；
- [0230] RPLAFSDAGPHVWGDPPIRLRHLYTSG (M28) (SEQ ID NO:28的氨基酸1-26)；
- [0231] RPLAFSDAGPHVHYWGDPPIRLRHLYTSG (M29) (SEQ ID NO:29的氨基酸1-28)；
- [0232] RPLAFSDAGPHVHYAWGDPIRLRHLYTSG (M30) (SEQ ID NO:30的氨基酸1-29)；
- [0233] RHPIPDSPLLQFGAQVRLRHLYTSG (M31) (SEQ ID NO:31的氨基酸1-26)；
- [0234] RHPIPDSPLLQFGDQVRLRHLYTSG (M32) (SEQ ID NO:32的氨基酸1-26)；
- [0235] RHPIPDSPLLQFGPQVRLRHLYTSG (M33) (SEQ ID NO:33的氨基酸1-26)；
- [0236] RHPIPDSPLLQFGGAVVRLRHLYTSG (M34) (SEQ ID NO:34的氨基酸1-26)；
- [0237] RHPIPDSPLLQFGGEVRLRHLYTSG (M35) (SEQ ID NO:35的氨基酸1-26)；
- [0238] RHPIPDSPLLQFGGNVRLRHLYTSG (M36) (SEQ ID NO:36的氨基酸1-26)；
- [0239] RHPIPDSPLLQFGGQARLRHLYTSG (M37) (SEQ ID NO:37的氨基酸1-26)；
- [0240] RHPIPDSPLLQFGGQIRLRHLYTSG (M38) (SEQ ID NO:38的氨基酸1-26)；
- [0241] RHPIPDSPLLQFGGQTQLRHLYTSG (M39) (SEQ ID NO:39的氨基酸1-26)；
- [0242] RHPIPDSPLLQFGWGQPVRLRHLYTSG (M40) (SEQ ID NO:40的氨基酸1-28)；
- [0243] DAGPHVHYGWGDPPIRLRHLYTSG (M74-R) (SEQ ID NO:74的氨基酸2-24)；
- [0244] VHYGWGDPPIRLRHLYTSG (M75-R) (SEQ ID NO:75的氨基酸2-19)；
- [0245] RLRHLYTSG (M77-R) (SEQ ID NO:77的氨基酸2-10)；
- [0246] RHPIPDSPLLQFGWGDPPIRLRHLYTSG (M9) (SEQ ID NO:9的氨基酸1-28)；
- [0247] RHPIPDSPLLQWGDPPIRLRHLYTSG (M8) (SEQ ID NO:8的氨基酸1-26)；

- [0248] RPLAFSDAGPLLQFGWGDPIRLRHLYTSG (M12) (SEQ ID NO:12的氨基酸1-29)；
[0249] RHIPIDSSPHVHYGWGDPIRLRHLYTSG (M10) (SEQ ID NO:10的氨基酸1-28)；
[0250] RPLAFSDAGPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M13) (SEQ ID NO:13的氨基酸1-27)；
[0251] RHIPIDSSPHVHYGGQVRLRHLYTSG (M14) (SEQ ID NO:14的氨基酸1-26)；
[0252] RPLAFSDAGPHVHYGGDIRLRHLYTSG (M43) SEQ ID NO:43的氨基酸1-27)；或
[0253] RDSSPLLQFGGQVRLRHLYTSG (M6) (SEQ ID NO:6的氨基酸1-22)；
[0254] 并且对于前述肽序列中的任一个，氨基末端R残基可以缺失。
[0255] 本发明的肽序列另外包括相比于FGF19或FGF 19变体序列具有减少或缺乏的HCC的诱导或形成的那些序列，该FGF 19变体序列在FGF19的氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换FGF19 WGDPPI (SEQ ID NO:170) 序列。本发明的肽序列还包括相比于FGF19或FGF 19变体序列具有更大葡萄糖降低活性的那些序列，该FGF 19变体序列在FGF19的氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换FGF19WGDPPI (SEQ ID NO:170) 序列。此外，本发明的肽序列包括相比于FGF19或FGF 19变体序列具有较低脂质(例如，甘油三酯、胆固醇、非-HDL或HDL)增加活性的那些序列，该FGF 19变体序列在FGF19的氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换FGF19WGDPPI (SEQ ID NO:170) 序列。

[0256] 典型地，本发明肽序列中的氨基酸或残基的数量总计将少于约250个(例如，氨基酸或其模拟物)。在各种特定的实施方式中，残基的数量包括约20个直至约200个残基(例如，氨基酸或其模拟物)。在另外的实施方式中，残基的数量包括约50个直至约200个残基(例如，氨基酸或其模拟物)。在进一步的实施方式中，残基的数量包括长度为约100个直至约195个残基(例如，氨基酸或其模拟物)。

[0257] 氨基酸或残基可以通过酰胺或通过非天然和非酰胺化学键连接，包括，例如，与戊二醛、N-羟基琥珀酰亚胺酯、双官能马来酰亚胺或N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC)形成的那些化学键。非酰胺键包括，例如，酮亚甲基、氨基亚甲基、烯烃、醚、硫醚等(参见，例如，Spatola in Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins, Vol.7, pp 267-357 (1983), “Peptide and Backbone Modifications,” Marcel Decker, NY)。因此，当本发明的肽包括FGF19序列的一部分和FGF21序列的一部分时，这两个部分不需要通过酰胺键彼此接合，而可以通过任何其他化学部分接合或经由接头部分缀合在一

起。

[0258] 本发明还包括所例示的肽序列的子序列、变体和修饰形式(包括FGF19和FGF21变体以及在表1-10和序列表中列出的子序列),只要前述至少保留可检测或可测量的活性或功能。例如,某些例示的变体肽在C-末端部分处,例如,在所述变体的“TSG”氨基酸残基之后具有FGF19C-末端序列,PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSDYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:188)。

[0259] 而且,某些例示的变体肽,例如,在氨基-末端具有FGF21序列的全部或一部分的那些,具有位于N-末端的“R”残基,其可以省略。类似地,某些例示的变体肽,包括位于N-末端的“M”残基,其可以附加至省略的残基如“R”残基或对其进一步置换。更特别地,在各种实施方式中,在N-末端的肽序列包括以下中的任一个:RDSS (SEQ ID NO:115)、DSS、MDSS (SEQ ID NO:116) 或MRDSS (SEQ ID NO:117)。此外,细胞中,当“M”残基相邻于“S”残基时,该“M”残基可以被裂解以使该“M”残基从肽序列缺失,而当“M”残基相邻于“D”残基时,该“M”残基可以不被裂解。因此,通过举例的方式,在各种实施方式中,肽序列包括在N-末端具有以下残基的那些:MDSSPL (SEQ ID NO:119)、MSDSSPL (SEQ ID NO:120) (裂解为SDSSPL (SEQ ID NO:112)) 和MSSPL (SEQ ID NO:113) (裂解为SSPL (SEQ ID NO:114))。

[0260] 因此,本发明的“肽”、“多肽”和“蛋白质”序列包括FGF19和FGF21变体的子序列、变体和修饰形式以及在表1-10和序列表中列出的子序列,和在表1-10和序列表中列出的FGF19/FGF21融合体和嵌合体,只要所述子序列、变体或修饰形式(例如,融合体或嵌合体)至少保留可检测的活性或功能,例如,调节胆汁酸体内稳态。

[0261] 如本文使用的,术语“修饰”及其语法变型,是指相对于参考组合物如肽序列,所述组合物偏离。这样的修饰的肽序列、核酸或其他组合物相比于参考未修饰的肽序列、核酸或其他组合物可以具有更大或更低的活性或功能,或者相比于参考未修饰的肽序列、核酸或其他组合物具有不同的功能或活性,或者可以具有在配制用于治疗的蛋白质中所期望的性质(例如血清半衰期),以引出用于检测测定的抗体,和/或用于蛋白质纯化。例如,本发明的肽序列可以被修饰以增大血清半衰期,以增加蛋白质的体外和/或体内稳定性等。

[0262] 本文中例示的肽序列的这样的子序列、变体和修饰形式(例如,表1-10中和序列表中列出的肽序列)的特定实例包括对或从氨基末端、羧基-末端或内部的一个或多个氨基酸的置换、缺失和/或插入/添加。一个实例是所述肽序列内的一个氨基酸残基置换另一个氨基酸残基。另一个是从所述肽序列缺失一个或多个氨基酸残基,或一个或多个氨基酸残基插入或添加到所述肽序列中。

[0263] 置换、缺失或插入/添加的残基的数量为肽序列的一个或多个氨基酸(例如,1-3、3-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90、90-100、100-110、110-120、120-130、130-140、140-150、150-160、160-170、170-180、180-190、190-200、200-225、225-250,或更多个)。因此,FGF19或FGF21序列可以具有少数或许多个置换、缺失或插入/添加的氨基酸(例如,1-3、3-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90、90-100、100-110、110-120、120-130、130-140、140-150、150-160、160-170、170-180、180-190、190-200、200-225、225-250,或更多个)。另外,FGF19氨基酸序列可以包括来自FGF21的约1-3、3-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90、90-100、100-

110、110-120、120-130、130-140、140-150、150-160、160-170、170-180、180-190、190-200、200-225、225-250或更多个氨基酸的氨基酸序列或由其组成；或FGF21氨基酸或序列可以包括来自FGF19的约1-3、3-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90、90-100、100-110、110-120、120-130、130-140、140-150、150-160、160-170、170-180、180-190、190-200、200-225、225-250或更多个氨基酸的氨基酸序列或由其组成。

[0264] 置换的具体实例包括用L-残基置换D残基。因此，尽管残基以L-异构体构型列出，但包括在本发明的肽序列的任何特定或所有位置处的D-氨基酸，除非D-异构体导致不具有可检测或可测量的功能的序列。

[0265] 另外的具体实例是非保守性和保守性置换。“保守性置换”是一个氨基酸被生物学、化学或结构上类似的残基代替。生物学类似是指置换与生物学活性例如葡萄糖降低活性相容。结构上类似是指氨基酸具有类似长度的测量，如丙氨酸、甘氨酸和丝氨酸，或具有类似大小，或第一、第二或另外的肽序列的结构被保持。化学类似是指残基具有相同的电荷，或都是亲水和疏水的。特定实例包括一个疏水残基如异亮氨酸、缬氨酸、亮氨酸或蛋氨酸置换另一个，或一个极性残基置换另一个，如精氨酸置换赖氨酸，谷氨酸置换天冬氨酸，或谷氨酰胺置换天冬酰胺，丝氨酸置换苏氨酸等。可以使用常规测定来确定子序列、变体或修饰形式是否具有活性，例如葡萄糖降低活性。

[0266] 本文例示的肽序列的子序列、变体和修饰形式(例如，在表1-10和序列表中列出的肽序列)的特定实例与参考肽序列(例如，在表1-10和序列表任一个中的肽序列)具有50%-60%、60%-70%、70%-75%、75%-80%、80%-85%、85%-90%、90%-95%，或96%、97%、98%，或99%同一性。术语“同一性”和“同源性”及其语法变形是指两个或更多个参考的实体是相同的。因此，其中两个氨基酸序列是相同的，它们具有相同的氨基酸序列。“同一性的区域、区或结构域”是指两个或更多个参考的实体的一部分是相同的。因此，其中两个氨基酸序列在一个或多个序列区上是相同的或同源的，它们在这些区中享有同一性。

[0267] 两个序列之间的同一性的程度可以使用本领域已知的计算机程序和数学算法确定。这样的计算百分比序列同一性(同源性)的算法通常解释比较区上的序列空隙和失配。例如，BLAST(例如，BLAST 2.0)搜索算法(参见，例如，Altschul等人，J.Mol.Biol.215:403(1990)，通过NCBI公众可获得)具有如下的示例性搜索参数：失配-2；空隙开口5；空隙延伸2。对于肽序列比较，BLASTP算法典型地联合评分矩阵如PAM100，PAM 250，BLOSUM 62或BLOSUM 50使用。FASTA(例如，FASTA2和FASTA3)和SSEARCH序列比较程序也用来定量同一性的程度(Pearson等人，Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:2444(1988)；Pearson，Methods Mol Biol.132:185(2000)；和Smith等人，J.Mol.Biol.147:195(1981))。也已经开发了使用基于Delaunay三角网的拓扑映射(Delaunay-based topological mapping)用于定量蛋白质结构相似性的程序(Bostick等人，Biochem Biophys Res Commun.304:320(2003))。

[0268] 在本发明肽序列中，包括本文中例示的肽序列的子序列、变体和修饰形式(例如，在表1-10和序列表中列出的序列)，“氨基酸”或“残基”包括常规 α -氨基酸以及 β -氨基酸、 α ， α 二取代的氨基酸和N-置换的氨基酸，其中至少一个侧链是如本文定义的氨基酸侧链部分。“氨基酸”进一步包括N-烷基 α -氨基酸，其中N-末端氨基基团具有C₁至C₆直链或支链烷基取代基。术语“氨基酸”因此包括天然存在蛋白质氨基酸、非蛋白质氨基酸、翻译后修饰的氨基酸(例如，通过糖基化、磷酸化、酯或酰胺裂解等)的立体异构体和修饰、酶促修饰或合成的

氨基酸、衍生的氨基酸、构建体或设计成模拟氨基酸的结构、具有从天然存在部分的修饰的、衍生的侧链的氨基酸,或合成的或不是天然存在的氨基酸等。修饰的和不常见的氨基酸包括在本发明的肽序列中(参见,例如,在Synthetic peptides: A User's Guide; Hruby等人, *Biochem. J.* 268:249 (1990); 和 Toniolo C., *Int. J. Peptide Protein Res.* 35:287 (1990)。

[0269] 另外,包括了氨基酸的保护基和修饰基团。如本文中使用的,术语“氨基酸侧链部分”包括任何氨基酸的任何侧链,如术语“氨基酸”在本文中定义的。因此这包括在天然存在氨基酸中的侧链部分。其进一步包括如本文中所述的和本领域技术人员已知的在修饰的天然存在氨基酸中的侧链部分,如在天然存在蛋白质氨基酸、非-蛋白质氨基酸、翻译后修饰的氨基酸、酶修饰的和合成的氨基酸、衍生的氨基酸、构建体或设计为模拟氨基酸的结构等的立体异构体和修饰中的侧链部分。例如,本文中公开的或本领域技术人员已知的任何氨基酸的侧链包括在该定义中。

[0270] “氨基酸侧链部分的衍生物”包括在氨基酸侧链部分的定义中。衍生的氨基酸侧链部分的非限制性实例包括,例如:(a)将一个或多个饱和或不饱和的碳原子添加到已有烷基、芳基或芳烷基链;(b)用另一个原子,优选地氧或氮置换侧链中的碳;(c)将末端基团添加到侧链的碳原子,包括甲基($-CH_3$)、甲氧基($-OCH_3$)、硝基($-NO_2$)、羟基($-OH$)或氰基($-C=N$);(d)对于包括羟基、巯基或氨基基团的侧链部分,添加合适的羟基、巯基或氨基保护基;或(e)对于包括环结构的侧链部分,添加一个或多个环取代基,包括直接或通过醚键连接的羟基、卤素、烷基或芳基基团。对于氨基基团,合适的保护基对于本领域技术人员是已知的。条件是这样的衍生化在最终肽序列中提供期望活性(例如,葡萄糖降低,改善的葡萄糖或脂质代谢,抗糖尿病活性,缺少实质性HCC形成或肿瘤发生,缺少瘦肉或脂肪质量的实质性调节等)。

[0271] “氨基酸侧链部分”包括所有这样的衍生化,并且特定的非限制性实例包括: γ -氨基丁酸、12-氨基十二烷酸、 α -氨基异丁酸、6-氨基己酸、4-(氨基甲基)-环己烷甲酸、8-氨基辛酸、联苯丙氨酸、Boc-叔丁氧基羰基、苄基、苯甲酰基、谷氨酸、二氨基丁酸、吡咯赖氨酸、二氨基丙酸、3,3-联苯丙氨酸、鸟氨酸(orthonine)、谷氨酸、1,3-二氢-2H-异吲哚甲酸、乙基、Fmoc-芴基甲氧基羰基、庚酰基($CH_3-(CH_2)_5-C(=O)-$)、己酰基($CH_3-(CH_2)_4-C(=O)-$)、高精氨酸、高半胱氨酸、高赖氨酸、高苯丙氨酸、高丝氨酸、甲基、蛋氨酸亚砜、蛋氨酸砜、正缬氨酸(NVA)、苯基甘氨酸、丙基、异丙基、肌氨酸(SAR)、叔丁基丙氨酸、和苄氧基羰基。

[0272] 单个氨基酸,包括天然存在蛋白质氨基酸、非-蛋白质氨基酸、翻译后修饰的氨基酸、酶合成的氨基酸、非-天然存在氨基酸的立体异构体和修饰,包括衍生的氨基酸、衍生自前述中的任一种的 α , α -二取代的氨基酸(即, α , α 二取代的氨基酸、其中至少一个侧链与其衍生的残基的侧链相同)、衍生自前述中的任一种的 $\alpha\beta$ -氨基酸(即, $\alpha\beta$ -氨基酸,其不同在于存在 β -碳,其他方面与其衍生的残基相同)等,包括所有前述的在本文中称为“残基”。除了 α -氨基酸的侧链部分之外,合适的取代基包括C1至C6直链或支链烷基。Aib是 α , α 二取代氨基酸的一个实例。尽管 α , α 二取代氨基酸可以参考利用传统L-和D-异构体参考,但应该理解这样的参考是为了方便,并且在 α -位置的取代基是不同的情况下,这样的氨基酸可互换地称为当合适时,衍生自L-或D-异构体的具有指定的氨基酸侧链部分的残基的 α , α -二取代的

氨基酸。因此, (S)-2-氨基-2-甲基-己酸可以称为衍生自L-NIe (正亮氨酸) 的 α,α 二取代氨基酸或称为衍生自D-Ala的 α,α 二取代的氨基酸。类似地,Aib可以称为衍生自Ala的 α,α -二取代氨基酸。无论什么时候提供 α,α 二取代氨基酸,应理解为包括其所有(R)和(S)构型。

[0273] “N-取代氨基酸”包括任何氨基酸,其中氨基酸侧链部分共价结合至骨架氨基基团,任选地在 α -碳位置没有不同于H的取代基的情况下。肌氨酸是N-取代氨基酸的一个实例。通过举例的方式,肌氨酸可以称为Ala的N-取代氨基酸衍生物,因为肌氨酸和Ala的氨基侧链部分相同,即甲基。

[0274] 本发明肽序列,包括本文例示的肽序列的子序列、变体和修饰形式(例如表1-10序列表中列出的序列)的共价修饰包括在本发明中。一种类型的共价修饰包括使靶向氨基酸残基与有机衍生剂(其能够与肽的所选侧链或N-或C-末端残基反应)反应。用双官能剂衍生例如可用于将肽交联至水不溶性支持基质或在用于纯化抗-肽抗体的方法中使用的表面,反之亦然。经常使用的交联剂包括,例如,1-二(二偶氮乙酰基)-2-苯基乙烷、戊二醛、N-羟基琥珀酰亚胺酯,例如,与4-叠氮基水杨酸的酯,同型双功能亚氨酸酯,包括二琥珀酰亚氨酸如3,3'-二硫代二(琥珀酰亚氨基丙酸酯)、双官能马来酰亚胺如二-N-马来酰亚胺基-1,8-辛烷和试剂如甲基-3-[(p-叠氮基苯基) 二硫代]丙酰亚氨酸酯。

[0275] 其他修饰包括谷氨酰基和天门冬酰基残基的脱酰胺分别至对应的谷氨酰基天门冬酰基残基,脯氨酸和赖氨酸的羟基化,丝氨酰基或苏氨酰基残基的羟基的磷酸化,赖氨酸、精氨酸和组氨酸侧链的 α -氨基团的甲基化(T.E.Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H.Freeman&Co., San Francisco, pp.79-86 (1983)),N-末端胺的乙酰化,任何C-末端羧基的酰胺化等。

[0276] 例示的肽序列,以及本文例示的肽序列的子序列、变体和修饰形式(例如,表1-10和序列表中列出的序列),也可以包括用于稳定性的骨架的改变、衍生物和肽模拟物。术语“类肽”包括是残基的模拟物的分子(称为“模拟物”),包括但不限于哌嗪核心分子、酮-哌嗪(keto-piperazine)核心分子和二氮杂卓(diazepine)核心分子。除非另有说明,本发明肽序列的氨基酸模拟物包括羧基和氨基基团,和对应于氨基酸侧链的基团,或在甘氨酸的模拟物的情况下,没有不同于氢的侧链。

[0277] 通过举例的方式,这些将包括这样的化合物,其模拟天然存在氨基酸的空间排列、表面电荷分布、极性等,但不需要是氨基酸,其将在生物学系统中赋予稳定性。例如,脯氨酸可以被合适大小和取代的其他内酰胺或内酯置换;亮氨酸以被烷基酮取代,N-取代酰胺,以及使用烷基、烯基或其他取代基的氨基酸侧链长度的变化,其他可以是对技术人员明显的。形成这样的取代的必要条件是提供与用来设计分子的残基大致相同大小和电荷与构造的分子。这些修饰的精化将通过在功能(例如,葡萄糖降低)或其他测定中分析化合物,并比较结构活性关系而形成。这样的方法在医药化学和药物开发中工作的技术人员的范围内。

[0278] 本发明肽序列,包括例示肽序列的子序列、序列变体和修饰形式(包括在表1-10和序列表中列出的肽)的另一种类型修饰是糖基化。如本文使用的,“糖基化”广义地是指将一个或多个糖(例如碳水化合物)部分存在、添加或连接至蛋白质、脂质或其他有机分子。本文中使用术语“去糖基化”通常意图是指去除或缺失一个或多个糖(例如碳水化合物)部分。另外,该短语包括天然蛋白质的糖基化中的定量变化,包括存在的各种糖(例如,碳水化合物)部分的类型和比例(量)的变化。

[0279] 糖基化可以通过修饰氨基酸残基、或通过添加在天然序列中可以存在或可以不存在的一个或多个糖基化位点。例如,典型地,非糖基化残基可以置换可以被糖基化的残基。糖基化位点的添加可以通过改变氨基酸序列实现。可以对肽序列进行改变,例如,通过添加或置换一个或多个丝氨酸或苏氨酸残基(用于O-连接的糖基化位点)或天冬酰胺残基(用于N-连接的糖基化位点)。N-连接的和O-连接的寡糖以及在每种类型中发现的糖残基的结构可以是不同的。在二者上通常发现的一种糖类型是N-乙酰基神经氨酸(下文称为唾液酸)。唾液酸通常是N-连接和O-连接的寡糖的末端残基并且,借助于其负电荷,可以对糖蛋白提供酸性。

[0280] 本发明的肽序列可以任选地通过在核苷酸(例如,DNA)水平的变化而改变,特别是通过在宇轩的碱基处突变编码肽的DNA以使产生将翻译成所需氨基酸的密码子。增加肽上的糖部分的数量的另一种方式是通过将糖昔化学或酶偶联至多肽(参见,例如,在WO 87/05330中)。去糖基化可以通过去除潜在的糖基化位点、通过化学和/或酶手段缺失糖基化、或通过置换被糖基化的编码氨基酸残基的密码子实现。化学去糖基化技术是已知的,并且多肽上的碳水化合物部分的酶裂解可以通过利用各种各样的内切-和外切糖昔酶实现。

[0281] 各种细胞系可以用来生产被糖基化的蛋白质。一个非限制性实例是二氢叶酸还原酶(DHFR)-缺陷中华仓鼠卵巢(CHO)细胞,其常用的用于生产重组糖蛋白的宿主细胞。这些细胞不表达酶β-半乳糖昔α-2,6-唾液酸转移酶并因此不将α-2,6键中的唾液酸添加到在这些细胞中产生的糖蛋白的N-连接的寡糖。

[0282] 另一种类型的修饰是在本发明肽序列的N-和/或C-末端缀合(例如,连接)一个或多个另外的组分或分子,如另一个蛋白质(例如,具有与主题蛋白质异源的氨基酸序列的蛋白质),或载体分子。因此,示例性肽序列可以是与另一个组分或分子的缀合物。

[0283] 在某些实施方式中,本发明肽序列的氨基-或羧基-末端可以与免疫球蛋白Fc区(例如,人Fc)融合以形成融合缀合物(或融合分子)。Fc融合缀合物可以增加生物药物的全身半衰期,并因此生物药物产品可以具有延长的活性或需要较少的频繁施用。Fc结合至内衬血管的内皮细胞中的新生儿Fc受体(FcRn),并且在结合后,Fc融合分子被保护免于降解并且再释放到循环中,将该分子在循环中保持更长时间。这种Fc结合被认为是内源性IgG保持其长血浆半衰期的机制。熟知的和有效的Fc-融合药物由连接至抗体的Fc区的生物药物的两个拷贝构成以改善药物动力学、溶解性和生产效率。更近的Fc-融合技术将生物药物的单个拷贝连接至抗体的Fc区以相比于传统Fc融合缀合物,优化生物药物的药物动力学和药效学性质。

[0284] 缀合物修饰可以用来生产保持活性的肽序列,具有第二分子的另外或互补的功能或活性。例如,肽序列可以缀合至分子,例如,以有利于溶解性、储存、体内或货架寿命或稳定性,免疫原性降低、体内延迟的或受控释放等。其他功能或活性包括相对于未缀合的肽序列降低毒性的缀合物、比未缀合的肽序列更有效地靶向一类细胞或器官的缀合物、或进一步反驳与本文所述的疾病或病症(例如糖尿病)相关的病因或作用。

[0285] 蛋白质治疗的临床有效性可以受短血浆半衰期和对降解的易感性限制。各种治疗性蛋白质的研究已显示,各种修饰,包括将肽序列缀合或连接至各种各样的非蛋白质性质的聚合物,例如聚乙二醇(PEG)、聚丙二醇或聚氧烯烃中的任一种(参见,例如,典型地经由共价结合至蛋白质和非蛋白质性质的聚合物(例如,PEG)的连接部分),可以延长半衰期。这

样的PEG-缀合的生物分子已显示具有临床上有用的性质,包括更好的物理和热稳定性、对酶降解的易感性的保护、增加的溶解性、更长的体内循环半衰期和降低的清除率,降低的免疫原性和抗原性,以及降低的毒性。

[0286] 适用于与本发明肽序列缀合的PEG通常在室温可溶于水,并且具有通式R(0-CH₂-CH₂)_n0-R,其中R是氢或保护基,如烷基或链烷醇基团,并且其中n是1至1000的整数。当R是保护基时,其通常具有1至8个碳。缀合至肽序列的PEG可以是直链的或支链的。支链的PEG衍生物、“星形PEG”和多臂PEG包括在本发明中。用于本发明的PEG的分子量不限制为任何特定范围,但是某些实施方式具有500至20,000的分子量,而其它实施方式具有4,000和10,000的分子量。

[0287] 本发明包括缀合物的组合物,其中PEG具有不同的“n”值并且因此各种不同PEG以特定比率存在。例如,一些组合物包含其中n=1,2,3和4的缀合物的混合物。在一些组合物中,其中n=1的缀合物的百分比为18-25%,其中n=2的缀合物的百分比为50-66%,其中n=3的缀合物的百分比为12-16%,并且其中n=4的缀合物的百分比为至多5%。这样的组合物可以通过本领域已知的反应条件和纯化方法生产。

[0288] PEG可以直接或间接地(例如,通过中间体)结合至本发明的肽序列。例如,在一种实施方式中,PEG经由末端反应基团(“间隔区”)结合。间隔区是例如介导一个或多个肽序列的游离氨基或羧基基团和聚乙二醇之间的键的末端反应基团。具有可以结合至游离氨基基团的间隔区的PEG包括N-羟基琥珀酰亚胺聚乙二醇,其可以通过激活聚乙二醇与N-羟基琥珀酰亚胺的琥珀酸酯而制备。可以结合至游离氨基基团的另一种激活的聚乙二醇是2,4-二(0-甲氧基聚乙二醇)-6-氯-s-三嗪,其可以通过使聚乙二醇单甲酯与氰尿酰氯反应而制备。结合至游离羧基基团的激活的聚乙二醇包括聚氧乙二醇二胺。

[0289] 一种或多种本发明的肽序列与具有间隔区的PEG的缀合可以通过各种常规方法进行。例如,缀合反应可以利用试剂与蛋白质的摩尔比为4:1至30:1,在pH为5至10的溶液中在4°C至室温的温度下进行30分钟至20小时。反应条件可以选择以引导反应朝向主要产生所需的取代度。一般地,低温、低pH(例如,pH=5)和短反应时间趋于减少连接的PEG数量,而高温、中性至高pH(例如,pH≥7)和更长的反应时间趋于增加连接的PEG数量。本领域已知的各种方法可以用来终止反应。在一些实施方式中,反应通过酸化反应混合物并在例如-20°C冷冻而终止。

[0290] 本发明肽序列,包括例示肽序列的子序列、序列变体和修饰形式(包括在表1-10和序列表中列出的肽),进一步包括缀合至大的、慢慢代谢的大分子如蛋白质;多糖,如琼脂糖凝胶、琼脂糖、纤维素、纤维素珠;聚合氨基酸如聚谷氨酸、聚赖氨酸;氨基酸共聚物;失活病毒粒子;失活细菌毒素如来自白喉、破伤风、霍乱、白细胞毒素分子的类毒素;失活细菌;以及树状突细胞。这样的缀合形式,如果期望,可以用来生产针对本发明的肽序列的抗体。

[0291] 用于缀合的另外的合适组分和分子包括,例如,甲状腺球蛋白;清蛋白如人血清清蛋白(HSA);破伤风类毒素;白喉类毒素;聚氨基酸如聚(D-赖氨酸:D-谷氨酸);轮状病毒的VP6多肽;流感病毒血凝素,流感病毒核蛋白;钥孔戚血蓝素(KLH);和乙型肝炎病毒核心蛋白和表面抗原;或前述的任意组合。

[0292] 清蛋白与本发明肽序列的融合可以,例如,通过遗传操作而实现,以使编码HAS(人血清清蛋白)的DNA或其片段结合至编码肽序列的DNA。之后,合适的宿主可以用以例如合适

质粒的形式的融合核苷酸序列转化或转染,以表达融合多肽。表达可以自例如原核或真核细胞在体外实现,或自例如转基因有机体在体内实现。在本发明的一些实施方式中,融合蛋白的表达在哺乳动物细胞系,例如,CHO细胞系中进行。

[0293] 用于将靶标蛋白质或肽遗传地融合至清蛋白的其他方式包括称为 **Albufuse®** (Novozymes Biopharma A/S;Denmark) 的技术,并且该缀合的治疗用肽序列经常变得显著更有效,在体内具有更好的摄取。该技术已在商业上利用来生产 **Albuferon®** (Human Genome Sciences),一种用来治疗丙型肝炎感染的清蛋白和干扰素 α -2B的组合。

[0294] 另一种实施方式需要使用一个或多个人结构域抗体 (dAb)。dAb是人抗体 (IgG) 的最小功能结合单元并且具有有利的稳定性和溶解性特性。该技术需要缀合至HAS的dAb(由此形成“AlbudAb”;参见,例如,EP1517921B、W02005/118642和W02006/051288) 和关注的分子(例如,本发明的肽序列)。相比于用于延长肽的血清半衰期的当前技术,AlbudAb经常较小并且更易于在微生物表达系统如细菌或酵母菌中生产。由于HAS具有约三周的半衰期,所以所得到的缀合分子改善半衰期。使用dAb技术还可以增强关注度分子的效力。

[0295] 用于缀合的另外的合适组分和分子包括适合于分离或纯化的那些。特定的非限制性实例包括结合分子,如生物素(生物素-抗生物素蛋白特异结合对)、抗体、受体、配体、凝集素,或包含固体载体的分子,包括,例如塑料或聚苯乙烯珠、板或珠、磁珠、测试条和膜。

[0296] 纯化方法如阳离子交换色谱法可以用来通过电荷差分离缀合物,其有效地将缀合物分成其各种分子量。例如,阳离子交换柱可以加载然后用 \sim 20mM乙酸钠pH \sim 4洗涤,接着用在pH为3至5.5,优选在pH \sim 4.5缓冲的线性(0M至0.5M)NaCl梯度洗脱。通过阳离子交换色谱法获得的馏分的内容物可以使用常规方法,例如,质谱分析、SDS-PAGE或其他已知的用于通过分子量分离分子实体的方法,通过分子量鉴别。然后相应鉴别这样的馏分,其含有连接有所需数量的PEG的缀合物,纯化而不含有未修饰的蛋白质序列和连接有其它数量的PEG的缀合物。

[0297] 在仍然其它实施方式中,本发明肽序列连接至化学剂(例如,免疫毒素或化疗剂),包括,但不限于,细胞毒素剂,包括紫杉醇,松胞菌素B,短杆菌肽D,丝裂霉素,依托泊苷,替尼泊苷(tenoposide),长春新碱,长春碱,秋水仙碱,多柔比星,道诺霉素,及其类似物或同系物。其它化学剂包括,例如,抗代谢物(例如,甲氨蝶呤,6-巯基嘌呤,6-硫鸟嘌呤,阿糖胞苷,5-氟尿嘧啶氨烯咪胺);烷基化剂(例如,氮芥,卡氮芥和洛莫司汀,cyclophosphamide、白消安,二溴甘露醇,链脲菌素,丝裂霉素C,和顺铂);抗生素(例如,博来霉素);和抗有丝分裂剂(例如,长春新碱和长春碱)。细胞毒素可以利用本领域已知的和本文描述的接头技术缀合至本发明的肽。

[0298] 用于缀合的其他合适的组分和分子包括适合于在测定中检测的那些。特定的非限制性实例包括可检测标志物,如放射性同位素(例如, ^{125}I ; ^{35}S , ^{32}P ; ^{33}P),产生可检测产品的酶(例如,荧光素酶, β -半乳糖苷酶,辣根过氧化酶和碱性磷酸酶),荧光蛋白,发色蛋白,染料(例如,异硫氰酸荧光素);发荧光金属(例如, ^{152}Eu);化学发光化合物(例如,鲁米诺和吖啶盐);发光化合物(例如,虫荧光素);和荧光蛋白。间接标志物包括结合至肽序列的标志物或可检测抗体,其中抗体可以被检测。

[0299] 在某些实施方式中,本方面的肽序列缀合至放射活性同位素以产生可用作诊断或治疗剂的细胞毒性放射性药物(放射性免疫缀合物)。这样的放射活性同位素的实例包括,

但不限于,碘¹³¹,铟¹¹¹,钇⁹⁰和镥¹⁷⁷。用于制备放射性免疫缀合物的方法对于技术人员是已知的。可商购获得的放射性免疫缀合物的实例包括替伊莫单抗(ibrutumomab tiuxetan)和托西莫单抗。

[0300] 用于本发明的肽序列的延长循环半衰期、增加稳定性、降低清除率或改变免疫原性或变应原性的包括在本发明中的其他方式和方法涉及通过HES化(hesylation)对肽序列的修饰,其利用连接至其他分子的羟乙基淀粉衍生物以修饰分子的特性。Hesylation的各个方面描述于,例如,美国专利申请号2007/0134197和2006/0258607。

[0301] 用来修饰本发明的肽序列的任何前述组分和分子,可以任选地经由接头缀合。合适的接头包括“柔性接头”,其通常足够长以允许在修饰的肽序列与连接的组分和分子之间有一些移动。接头分子通常为约6-50个原子长。接头分子也可以是,例如,芳基乙炔,含有2-10个单体单元的乙二醇低聚物,二胺,二酸,氨基酸或其组合。合适的接头可以易于选择并且可以为任何合适长度,如1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、10-20、20-30、30-50个氨基酸(例如,Gly)。

[0302] 示例性柔性接头包括甘氨酸聚合物(G)_n、甘氨酸-丝氨酸聚合物(例如,(GS)_n、GSGGS_n(SEQ ID NO:129)和GGGS_n(SEQ ID NO:130),其中n为至少1的整数)、甘氨酸-丙氨酸聚合物,丙氨酸-丝氨酸聚合物,以及其他柔性接头。甘氨酸和甘氨酸-丝氨酸聚合物是相对非结构化的,并且因此可以用作组分之间的中性栓链。示例性柔性接头包括,但不限于GGSG(SEQ ID NO:131)、GGS GG(SEQ ID NO:132)、GSGSG(SEQ ID NO:133)、GS GGG(SEQ ID NO:134)、GGGSG(SEQ ID NO:189)、和GS SSG(SEQ ID NO:135)。

[0303] 本发明的肽序列,包括表1-10和序列表中列出的FGF19和FGF21变体和子序列以及FGF19/FGF21融合体和嵌合体,并且表1-10和序列表中列出的序列的子序列、序列变体和修饰形式具有如本文中所述的一种或多种活性。活性的一个实例是调节胆汁酸体内稳态。活性的另一个实例是减少HCC的刺激或形成,例如,相比于FGF19。活性的另外的实例是较低或减少的脂质(例如,甘油三酯、胆固醇、非-HDL)或HDL增加活性,例如,如相比于FGF21。活性的一个进一步实例是较低的或减少的瘦肌质量减少活性,例如,如相比于FGF21。活性的又一个实例是结合至FGFR4或激活FGFR4,例如,以相当于或大于FGF19对于FGF4的结合亲和力结合至FGF4的肽序列;和以相当于或大于FGF19激活FGFR4的程度或量激活FGF4的肽序列。活性的仍然进一步的实例包括治疗胆汁酸有关或相关疾病。

[0304] 更特别地,本发明的肽序列,包括在表1-10和序列表中列出的FGF19和FGF21变体和子序列以及FGF19/FGF21融合体和嵌合体,并且表1-10和序列表中列出的序列的子序列、变体和修饰形式包括具有以下活性的那些:调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病同时相比于FGF19或FGF19变体序列具有减少的HCC形成的肽序列,该FGF 19变体序列在FGF 19的氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI(SEQ ID NO:171)、WGDPV(SEQ ID NO:172)、WGDI(SEQ ID NO:173)、GDPI(SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI(SEQ ID NO:175)、WGAPI(SEQ ID NO:176)、AGDPI(SEQ ID NO:177)、WADPI(SEQ ID NO:178)、WGDAI(SEQ ID NO:179)、WGDP(A) SEQ ID NO:180)、WDPI(SEQ ID NO:181)、WGDI(SEQ ID NO:182)、WGDP(SEQ ID NO:183)或FGDPI(SEQ ID NO:184)中的任一个置换FGF19 WGDP(SEQ ID NO:170)序列;相比于FGF19或FGF 19变体序列具有更大胆汁酸调节活性的肽序列,该FGF 19变体序列在FGF 19的氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI(SEQ ID NO:171)、WGDPV(SEQ ID NO:172)、WGDI

(SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换FGF19 WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列;相比于FGF19或FGF19变体序列具有较低脂质增加活性(例如,较低的甘油三酯、胆固醇、非-HDL) 或更大的HDL增加活性的肽序列,该FGF 19变体序列在FGF 19的氨基酸16-20处具有用GQV、GDI、WGPI (SEQ ID NO:171)、WGDPV (SEQ ID NO:172)、WGDI (SEQ ID NO:173)、GDPI (SEQ ID NO:174)、GPI、WGQPI (SEQ ID NO:175)、WGAPI (SEQ ID NO:176)、AGDPI (SEQ ID NO:177)、WADPI (SEQ ID NO:178)、WGDAI (SEQ ID NO:179)、WGDPA (SEQ ID NO:180)、WDPI (SEQ ID NO:181)、WGDI (SEQ ID NO:182)、WGDP (SEQ ID NO:183) 或FGDPI (SEQ ID NO:184) 中的任一个置换FGF19 WGDPI (SEQ ID NO:170) 序列;和相比于FGF21具有较低瘦体质量减少活性的肽序列。

[0305] 更特别地,本发明的肽序列,包括表1-10和序列表中列出的FGF19和FGF21变体以及子序列和FGF19/FGF21融合体与嵌合体,以及表1-10和序列表中列出的序列的子序列、变体和修饰形式,包括具有以下活性的那些:调节胆汁酸体内稳态的肽序列;治疗胆汁酸有关或相关疾病的肽序列,结合至FGFR4或激活FGFR4的肽序列,如以相当于或大于FGF19对于FGF4的结合亲和力结合至FGF4的肽序列;以相当于或大于FGF19激活FGFR4的程度或量激活FGF4的肽序列;下调或降低醛-酮还原酶基因表达的肽序列,例如,相比于FGF19;和相比于FGF21,上调或增加溶质载体家族1、成员2 (Slc1a2) 基因表达的肽序列。

[0306] 如本文中公开的,变体包括FGF19的各种N-末端修饰和/或截短,包括其中已有被来自FGF21的氨基酸置换一个或若干N-末端FGF19氨基酸的变体。这样的变体包括具有葡萄糖降低活性,以及有利的脂质分布并且不是可测量地或可检测地肿瘤发生的变体。

[0307] 在各个特定方面,对FGF19的环-8 (Loop-8) 区 (残基127-129定义为构成环-8区) 的修饰在本文中公开,其具有葡萄糖降低活性并且还具有有利的代谢参数而不表现出显著的致肿瘤性。本文中,FGF19残基127-129定义为构成环-8区,尽管在文献中,环-8区有时定义为包括其他残基(例如,残基125-129)或由其构成。如在实施例8和9中所述的,对FGF19框架的R127L和P128E置换的某些组合对HCC形成具有出乎意料的积极效果。甚至更令人惊讶地,在FGF19核心区(参见,例如,在表1-4、9和10中表示的核心区序列)中R127L和P128E置换以及G1n (Q) 对Leu (L) 的置换的组合对防止HCC形成具有升值更显著的作用。因此,包括FGF19环-8区的变体,因为他们可以减少或消除实质性的、可测量的或可检测的HCC形成。此外,减少HCC形成的作用可以通过对Loop 8区外部的氨基酸残基的修饰(例如,在核心区中的氨基酸残基的置换)增强。

[0308] 活性,如,例如,胆汁酸体内稳态的调节、葡萄糖降低活性、胆汁酸有关或相关疾病的分析、HCC形成或肿瘤发生、脂质增加活性或瘦体质量减少活性可以在动物如db/db小鼠中确定。与FGFR4的结合或FGFR4的激活的测量通过本文公开的或技术人员已知的测定确定。

[0309] 当提及肽序列使用时,术语“结合”或“结合”是指肽序列在分子水平相互作用。因此,结合至FGFR4的肽序列结合至FGFR4序列的全部或一部分。特异性和选择性结合可以使用本领域已知的测定区别于非特异性结合(例如,竞争性结合,免疫沉淀,ELISA,流式细胞仪,蛋白质印迹)。

[0310] 肽和肽模拟物可以使用本领域已知的方法生产和分离。肽可以使用化学方法全部或部分地合成(参见,例如,Caruthers (1980) *Nucleic Acids Res.Symp.Ser.* 215;Horn (1980);和Banga,A.K.,Therapeutic Pptides and Proteins,Formulation,Processing and Delivery Systems (1995) Technomic Publishing Co.,Lancaster,PA)。肽合成可以使用各种固相技术进行(参见,例如,Roberge *Science* 269:202 (1995);Merrifield, *Methods Enzymol.* 289:3 (1997))并且可以依据制造商说明实现自动化合成,例如,使用ABI 431A肽合成仪(Perkin Elmer)。肽和肽模拟物也可以使用组合方法合成。合成残基和多肽整合模拟物可以使用本领域已知的各种各样的程序和方法合成(参见,例如,Organic Syntheses Collective Volumes,Gilman,等人(Eds) John Wiley&Sons, Inc., NY)。修饰的肽可以通过化学修饰方法生产(参见,例如,Belousov, *Nucleic Acids Res.* 25:3440 (1997);Frenkel, *Free Radic.Biol.Med.* 19:373 (1995);和Blommers, *Biochemistry* 33:7886 (1994))。肽序列变化、衍生物、置换和修饰也可以使用方法如寡核苷酸介导的(位点定向的)突变、丙氨酸扫描和基于PCR的突变形成。位点定向的突变(Carter等人, *Nucl.Acids Res.*, 13:4331 (1986);Zoller等人, *Nucl.Acids Res.* 10:6487 (1987))、盒突变(Wellls等人, *Gene* 34:315 (1985))、限制选择突变(Wellls等人, *Philos.Trans.R.Soc.London SerA* 317:415 (1986))和其他技术可以在克隆的DNA上进行以生产本发明肽序列、变体、融合体和嵌合体,及其变化、衍生物、置换和修饰。

[0311] “合成的”或“制造的”肽序列是通过涉及通过人手操作的任何方法制备的肽。这样的方法包括但不限于前述的,如化学合成、重组DNA技术、较大分子的生物化学或酶分裂,以及前述的组合。

[0312] 本发明的肽序列,包括例示肽序列的子序列、序列变体和修饰形式(例如,表1-10和序列表中列出的序列),也可以被修饰以形成嵌合分子。根据本发明,提供了包括异源结构域的肽序列。这样的结构域可以添加至所述肽序列的氨基-末端或羧基-末端处。异源结构域也可以位于所述肽序列内,和/或备选地由FGF19和/或FGF21衍生的氨基酸序列侧接。

[0313] 术语“肽”还包括肽的二聚体或多聚体(低聚体)。根据本发明,提供了例示肽序列以及例示肽序列的子序列、变体和修饰形式(例如表1-10和序列表中列出的序列)的二聚体或多聚体(低聚体)。

[0314] 本发明进一步提供编码本发明的肽序列,包括表1-10和序列表中列出的序列的子序列、序列变体和修饰形式的核酸分子,以及包括编码所述肽的核酸的载体。因此,“核酸”包括编码本文中公开的例示肽序列的那些,以及编码例示肽序列的功能子序列、序列变体和修饰形式的那些,只要前述保持至少可检测或可检测的活性或功能。例如,本文中公开的例示肽序列的子序列、变体或修饰形式(例如,表1-10和序列表中列出的序列),其保持降低或减少葡萄糖,提供正常葡萄糖体内稳态,或减少与体内慢性或极性血糖过高症相关的组织病理学病症等的一定能力。

[0315] 核酸,其也可以在本文中称为基因、多核苷酸、核苷酸序列、引物、寡核苷酸或探针,是指任意长度的天然或修饰的含嘌呤和嘧啶的聚合物,或者多聚核糖核苷酸或者多聚脱氧核糖核苷酸或混合物的多聚核糖-多聚脱氧核糖核苷酸及其端基异构形式。两种或更多种含嘌呤和嘧啶的聚合物典型地通过磷酸酯键或其类似物连接。该术语可以交换地用来指核酸的所有形式,包括脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)。核酸可以单链、双链或三倍

体、线性或环状的。核酸包括基因组DNA和cDNA。RNA核酸可以是拼接或未拼接的mRNA、rRNA、tRNA或反义。核酸包括天然存在的、合成的、以及核苷酸类似物和衍生物。

[0316] 作为遗传密码的简并的结果,核酸分子包括相比于编码本发明的肽序列的核酸分子简并的序列。因此,提供了编码肽序列,包括本文中例示的肽序列的子序列、变体和修饰形式(例如,表1-10和序列表中列出的序列)的简并核酸序列。当提及核酸序列使用时,术语“互补的”是指提及的区是100%互补的,即表现出100%碱基配对而没有失配。

[0317] 核酸可以使用各种已知的标准克隆和化学合成方法中的任一种生产,并且可以通过本领域技术人员已知的位点定向突变或其他重组技术有意地改变。多核苷酸的纯度可以通过测序、凝胶电泳、UV分光光度法确定。

[0318] 核酸可以插入其中核酸的表达受“表达控制元件”(在本文中称为“表达盒”)影响或调节。术语“表达控制元件”是指调节或影响其操作性地连接的核酸序列的表达的一个或多个核酸序列。表达控制元件可以包括,当合适时,在编码蛋白质基因前的启动子、增强子、转录终止子、基因沉默子、起始密码子(例如,ATG)等。

[0319] 操作性地连接至核酸序列的表达控制元件控制核酸序列的转录并且当合适时的翻译。术语“操作性地连接”是指其中体积的组分为允许它们以其意图的方式起作用的关系的并列。典型地,表达控制元件在基因的5'或3'末端并列但也可以是内在的。

[0320] 表达控制元件包括组成性地激活转录的元件,其是可诱导的(即,需要用于激活的外部信号或刺激),或不可压制的(即,需要信号以关闭转录;当该信号不再存在时,转录被激活或“不可压制的”)。在本发明的表达盒中还包括足以使基因表达可控制用于特定细胞型或组织的控制元件(即,组织特异性控制元件)。典型地,这样的元件位于编码序列的上游或下游(及5'和3')。启动子通常位于编码序列的5'。启动子,由重组DNA或合成技术生产,可以用来提供用于本发明的多核苷酸的转录。“启动子”典型地是指足以指导转录的最小序列元件。

[0321] 核酸可以插入到质粒中,用于转化到宿主细胞中并且用于随后的表达和/或遗传操作。质粒是可以在宿主细胞中稳定地繁殖的核酸;质粒可以任选地含有表达控制元件以驱动核酸的表达。对于本发明的目的,载体与质粒是同义的。质粒和载体通常至少含有用于在细胞中繁殖的复制起源和启动子。质粒和载体也可以包括用于在宿主细胞中表达的表达控制元件,并且因此例如可用于编码肽序列的核酸的表达和/或遗传操作,在宿主细胞和有机体(例如,需要治疗的受试者)中表达肽序列,或生产肽序列。

[0322] 如本文使用的,术语“转基因”是指已通过策略被引入到细胞或有机体中的多核苷酸。例如,具有转基因的细胞,转基因已通过细胞的遗传操作或“转化”引入。已引入转基因的细胞或其后代称为“转化的细胞”或“转化体”。典型地,转基因包括在转化体的后代中并且成为从细胞发育的有机体的一部分。转基因可以插入到染色体DNA中并保持为自身复制质粒、YAC、微型染色体等。

[0323] 细菌系统启动子包括T7和诱导型启动子如噬菌体λ的pL、plac、ptrp、ptac(ptrp-lac杂合启动子)和四环素应答启动子。昆虫细胞系统启动子包括组成型或诱导型启动子(例如,蜕皮素)。哺乳动物细胞组成型启动子包括SV40、RSV、牛乳头状瘤病毒(BPV)和其他病毒启动子,或来源于哺乳动物细胞的基因组的诱导型启动子(例如,金属硫蛋白IIA启动子;热休克启动子)或来源于哺乳动物病毒的诱导型启动子(例如,腺病毒晚期启动子;诱导

型小鼠乳腺肿瘤病毒长末端重复序列)。备选地,逆转录病毒基因组可以遗传地修饰用于在适当宿主细胞中引入和指导肽序列的表达。

[0324] 由于本发明的方法和用途包括体内递送,所有表达系统进一步包括设计用于体内使用的载体。特定的非限制性实例包括腺病毒载体(美国专利号5,700,470和5,731,172)、腺相关载体(美国专利号5,604,090)、单纯疱疹病毒载体(美国专利号5,501,979)、逆转录病毒载体(美国专利号5,624,820,5,693,508和5,674,703)、BPV载体(美国专利号5,719,054)、CMV载体(美国专利号5,561,063)以及细小病毒、轮状病毒、诺瓦克病毒和慢病毒载体(参见,例如,美国专利号6,013,516)。载体包括将基因递送至肠道的细胞的那些,包括干细胞细胞(Croyle等人, *Gene Ther.* 5:645 (1998); S.J. Henning, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 17:341 (1997), 美国专利号5,821,235和6,110,456)。这些载体中的许多已被批准用于人类研究。

[0325] 酵母载体包括组成型和诱导型启动子(参见,例如,Ausubel等人, *In: Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 2, Ch. 13, ed., Greene Publish. Assoc. & Wiley Interscience, 1988; Grant等人 *Methods in Enzymology*, 153:516 (1987), eds. Wu & Grossman; Bitter *Methods in Enzymology*, 152:673 (1987), eds. Berger & Kimmel, Acad. Press, N.Y.; 和Strathern等人, *The Molecular Biology of the Yeast Saccharomyces* (1982) eds. Cold Spring Harbor Press, 第I卷和第II卷)。可以使用组成型酵母启动子如ADH或LEU2或诱导型启动子如GAL (R. Rothstein *In: DNA Cloning, A Practical Approach*, Vol. 11, Ch. 3, ed. D.M. Glover, IRL Press, Wash., D.C., 1986)。例如经由同源性重组,促进外来核酸序列整合到酵母染色体中的载体在本领域是已知的。酵母人工染色体(YAC)典型地在所插入的多核苷酸对于更多常规载体太大(例如,大于约12Kb)时使用。

[0326] 表达载体还可以含有对选择性压力赋予抗性的可选择标志物或可识别标志物(例如,β-半乳糖苷酶),由此允许具有载体的细胞被选择用于生长或扩增。备选地,可选择标志物可以在与含有编码肽序列的核酸的第一载体共同转染到宿主细胞的第二载体上。选择系统包括但不限于单纯疱疹病毒胸腺嘧啶激酶基因(Wigler等人, *Cell* 11:223 (1977))、次黄嘌呤鸟嘌呤磷酸核糖转移酶基因(Szybalska等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 48:2026 (1962))和腺嘌呤磷酸核糖转移酶(Lowy等人, *Cell* 22:817 (1980))基因,其可以分别用于tk-、hgprt-或aprt-细胞。另外,抗代谢物抗性可以用作对于以下的选择的基础:dhfr,其对甲氨蝶呤赋予抗性(O'Hare等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:1527 (1981));gpt基因,其对霉酚酸赋予抗性(Mulligan等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:2072 (1981));新霉素基因,其对氨基糖苷G-418赋予抗性(Colberre-Garapin等人, *J. Mol. Biol.* 150:1 (1981));嘌呤霉素;和潮霉素基因,其对潮霉素赋予抗性(Santerre等人, *Gene* 30:147 (1984))。另外的可选择基因包括trpB,其允许细胞利用吲哚代替色氨酸;hisD,其允许细胞利用组氨酸(histinol)代替组氨酸(Hartman等人, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8047 (1988));和ODC(鸟氨酸脱羧酶),其对鸟氨酸脱羧酶抑制剂2-(二氟甲基)-DL-鸟氨酸DFMO赋予抗性(McConlogue (1987) *In: Current Communications in Molecular Biology*, Cold Spring Harbor Laboratory)。

[0327] 根据本发明,提供了生产如本文中所述的FGF19和/或FGF21的变体或融合体的转化细胞(体外,体表和体内)和宿主细胞,其中FGF19和/或FGF21的变体或融合体的表达通过

编码该FGF19和/或FGF21的变体或融合体的核酸提供。表达本发明肽序列的转化和宿主细胞典型地包括编码本发明肽序列的核酸。在一种实施方式中,转化或宿主细胞是原核细胞。在另一种实施方式中,转化或宿主细胞是真核细胞。在各个方面中,真核细胞是酵母或哺乳动物(例如,人,灵长类动物等)细胞。

[0328] 如本文使用的,“转化的”或“宿主”细胞是其中引入了核酸的细胞,其可以繁殖和/或转录用于所编码肽序列的表达。该术语还包括宿主细胞的任何后代或亚克隆。

[0329] 转化和宿主细胞包括但不限于微生物如细菌和酵母;和植物、昆虫和哺乳动物。例如,用重组噬菌体核酸、质粒核酸或粘粒核酸表达载体转化的细菌;用重组酵母表达载体转化的酵母;用重组病毒载体(例如,花椰菜花叶病毒,CaMV;烟草花叶病毒,TMV)感染的或用重组质粒表达载体(例如,Ti质粒)转化的植物细胞系统;用重组病毒表达载体(例如,杆状病毒)感染的昆虫细胞系统;和用重组病毒表达载体(例如,逆转录病毒,腺病毒,牛痘病毒)感染的动物细胞系统,或基因改造用于瞬时或稳定繁殖或表达的转化动物细胞系统。

[0330] 对于基因治疗用途和方法,转化的细胞可以在受试者中。受试者中的细胞可以用编码如本文中所述的发明肽序列的核酸体内转化。备选地,细胞可以用转基因或多核苷酸体内转化,然后移植到受试者的组织中以实现治疗。备选地,原代细胞分离物或构建的细胞系可以用编码FGF19和/或FGF21的变体或其融合/嵌合序列(或变体)(如嵌合肽序列,包括FGF19的全部或一部分,或包括FGF21的全部或一部分)的转基因或多核苷酸转化,然后任选地移植到受试者的组织中。

[0331] 用于肽序列的表达,尤其是用于体内表达的非限制性靶细胞,包括胰腺细胞(胰岛细胞)、肌肉细胞、粘膜细胞和内分泌细胞。这样的内分泌细胞可以提供FGF19和/或FGF21的变体或其融合/嵌合序列(或变体)(如嵌合肽序列,包括FGF19的全部或一部分,或包括FGF21的全部或一部分)的诱导生产(分泌)。用于转化的另外的细胞包括干细胞或其他多能或多潜能细胞,例如,分化成各种胰腺细胞(胰岛细胞)、肌肉细胞、粘膜细胞和内分泌细胞的祖细胞。靶向干细胞提供本发明的肽序列的更长期表达。

[0332] 如本文使用的,当提及细胞使用时,术语“培养的”是指细胞在体外生长。这样的细胞的特定实例是分离自受试者并且在组织培养中生长或适于在组织培养中生长的细胞。另一个实例是在体外遗传地操作,并移植回到相同或不同受试者的细胞。

[0333] 当提及细胞使用时,术语“分离的”是指从其天然存在的体内环境分离的细胞。“培养的”和“分离的”细胞可以通过人手操作,例如遗传转化。这些术语包括细胞的任何后代,包括可以由于在细胞分裂期间发生的突变而与亲代细胞不同的后代细胞。该术语不包括整个人类。

[0334] 编码发明肽序列的核酸可以引入用于稳定表达入整个有机体的细胞中。这样的有机体,包括非人转基因动物,可用于研究肽表达在整个动物中的作用和治疗益处。例如,如本文中公开的,FGF19和/或FGF21的变体,或其融合/嵌合序列(或变体)(如嵌合肽序列,包括如本文中所述的FGF19的全部或一部分,或包括FGF21的全部或一部分)在小鼠中的生产调节胆汁酸体内稳态。

[0335] 发展或易于发展特定疾病(例如,糖尿病,退行性疾病,癌症等)的小鼠品系也可用于引入如本文中描述的治疗性蛋白以便研究治疗性蛋白表达在疾病易感小鼠中的作用。易感特定疾病或生理条件的转基因和遗传动物模型是用于表达FGF19和/或FGF21的变体,或

其融合/嵌合序列(或变体)(如嵌合肽序列,包括如本文中所述的FGF19的全部或一部分,或包括FGF21的全部或一部分)的恰当靶标。因此,根据本发明,提供了生产FGF19和/或FGF21的变体,或其融合/嵌合序列(或变体)(如嵌合肽序列,包括如本文中所述的FGF19的全部或一部分,或包括FGF21的全部或一部分)的非人转基因动物,它们的生产在动物中不是天然存在的,由在动物的体细胞或生殖细胞中存在的转基因提供。

[0336] 术语“转基因动物”是指这样的动物,其体细胞或生殖系细胞带有直接或间接地通过在亚细胞水平的有义遗传操作,如通过用重组病毒显微注射或感染而接收的遗传信息。术语“转基因”进一步包括获自如本文中所述遗传操作的转基因动物的细胞或组织(即,“转基因细胞”,“转基因组织”)。在本发明内容中,“转基因动物”不包括通过典型杂交育种或体外受精生产的动物,而是指其中一个或多个细胞接收核酸分子的动物。本发明的转基因动物相对于转基因可以是杂合的或纯合的。用于生产转基因动物(包括小鼠、绵羊、猪和青蛙)的方法在本领域是公知的(参见,例如,美国专利号5,721,367、5,695,977、5,650,298和5,614,396),并且本身被另外地包括。

[0337] 肽序列、编码肽序列的核酸、载体和表达肽序列的转化宿主细胞包括分离和纯化的形式。当用作本发明组合物的修饰语时,术语“分离的”是指所述组合物基本上完全或至少部分地与环境中的一种或多种组分分开。通常,在自然中存在的组合物,当分离时,是指所述组合物基本上完全或至少部分与环境中的一种或多种在性质上与其相关的材料分开,例如,一种或多种蛋白质、核酸、脂质、碳水化合物或细胞膜分开。术语“分离的”不排除所述组合物的置换物理形式,如变体、修饰或衍生形式,融合体和嵌合体,多聚体/低聚物等,或在宿主细胞中表达的形式。术语“分离的”也不排除其中在其内的组合的形式(例如,药物组合物,组合组合物等),其任何一个通过人手生产。

[0338] 当不含有一种或多种其他物质,如污染物或者不需要物质或材料的一些、相当数量或者大多数或全部时,“分离的”组合物也可以是“纯化的”。本发明的肽序列通常不是已知的或者认为是自然中存在的。然而,对于不是自然中存在的组合物,分离的组合物通常将不含有一些、相当数量的或者大多数或全部的典型地预期性质相关的其他材料。因此,在自然中也出现的分离的肽序列不包括在上百万中的其他序列中存在的多肽或多核苷酸,例如,如蛋白质文库的蛋白质或在基因组或cDNA文库中的核酸。“纯化的”组合物包括与一种或多种其他无活性或活性分子的组合。例如,本发明的肽序列组合另一种药物或药剂,例如如葡萄糖降低药物或治疗剂。

[0339] 如本文使用的,当用作肽序列、编码肽序列的核酸等的修饰语时,术语“重组”是指组合物已以通常在自然(例如,在体外)出现的方式操作(即,遗传改造)。重组肽的一个特定实例将是其中编码肽序列的核酸(例如,基因组或cDNA)克隆入质粒的情况,具有或没有5'、3'或内含子区,该基因通常在有机体的基因组内是连续的。重组肽或核酸的另一个实例是杂合或融合序列,如包含FGF19的一部分和FGF21的一部分的嵌合肽序列。

[0340] 根据本发明,提供了本发明肽序列,包括例示肽序列的子序列、变体和修饰形式(包括在表1-10和序列表中列出的FGF19和FGF21变体和子序列,以及在表1-10和序列表中列出的FGF19/FGF21融合体和嵌合体)的组合物和混合物。在一种实施方式中,混合物包括一种或多种肽序列和药用载体或赋形剂。在另一种实施方式中,混合物包括一种或多种肽序列和辅助药物或治疗剂,如胆汁酸体内稳态调节或抗糖尿病、或葡萄糖降低、药物或治疗

剂。还提供了如在药用载体或赋形剂中的一种或多种肽序列的与一种或多种胆汁酸体内稳态调节或治疗胆汁酸有关或相关疾病、或抗糖尿病、或葡萄糖降低药物或治疗剂的组合。这样的本发明的肽序列与另一种药物或药剂,如胆汁酸体内稳态调节或酸相关或有关疾病治疗,或葡萄糖降低药物或治疗剂的组合,例如可以根据本发明方法和用途,例如,用于受试者治疗是有用的。

[0341] 组合还包括将本发明的肽序列或核酸结合到粒子或高分子物质,如聚酯、碳水化合物、聚胺酸水凝胶、聚乙烯基吡咯烷酮、乙烯-乙酸乙烯酯、甲基纤维素、羧甲基纤维素、硫酸鱼精蛋白或丙交酯/乙交酯共聚物,或乙烯乙酸乙烯酯共聚物;在通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊中捕获,例如,分别通过使用羟甲基纤维素或明胶微胶囊,或聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊;结合到胶态药物递送和分散系统中如大分子复合物,纳米胶囊,微球体,珠子,和基于脂质的系统(例如,N-脂肪乙酰基团,如N-月桂酰基,N-油酰基,脂肪胺如十二烷胺,油酰胺等,参见,美国专利号6,638,513),包括例如水包油乳液、胶束、混合胶束和脂质体。

[0342] 本发明肽,包括如本文所述的例示肽序列的子序列、变体和修饰形式(包括在表1-10和序列表中列出的FGF19和FGF21变体和子序列,以及在表1-10和序列表中列出的FGF19/FGF21融合体和嵌合体)可以用来调节葡萄糖代谢并促进葡萄糖从血液转运至关键代谢器官如肌肉、肝和脂肪。这样的肽序列可以足以或有效恢复葡萄糖耐受性和/或改进或提供正常葡萄糖体内稳态的量生产。

[0343] 如本文中公开的,向小鼠施用各种FGF19和FGF21变体和融合肽序列成功地调节胆汁酸体内稳态。此外,与FGF19相反,某些肽序列在小鼠中不刺激或诱导HCC形成或肿瘤发生。因此,将本发明的肽,包括例示肽序列的子序列、变体和修饰形式(包括在表1-10和序列表中列出的FGF19和FGF21变体和子序列,以及在表1-10和序列表中列出的FGF19/FGF21融合体和嵌合体)通过体内或通过体表外方法直接或间接施用到动物中(例如,施用变体或融合肽、编码变体或融合肽的核酸,或表达变体或融合肽的转化细胞或基因治疗载体),可以用来治疗各种疾病,如胆汁酸有关或相关疾病。

[0344] 因此,本发明包括在体外、体表和体内(例如,在受试者上或中)方法和用途。这样的方法和用途可以利用本文中所述的本发明的任何肽序列实施。

[0345] 根据本发明,提供了治疗患有或处于患有疾病的受试者的方法。在各种实施方式中,方法包括将肽序列,如本文公开的FGF19或FGF21变体、融合体或嵌合体(参见,例如,表1-10),或本文中公开的FGF19或FGF21变体、融合体或嵌合体的子序列、变体或修饰形式(参见,例如,表1-10和序列表)以有效治疗疾病的量施用至受试者。

[0346] 用本发明的肽、以及方法和用途可治疗、可预防等的示例性疾病包括胆汁酸有关或相关疾病。疾病和病症的非限制性实例包括:代谢综合征;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积,和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),以及肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病,包括回肠切除、炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎),损害胆汁酸吸收而没有表征(特应性)的疾病,导致腹泻(例如,BAD)和GI症状和GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常,如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压。

的那些。对于治疗,本发明的肽序列可以施用至需要调节胆汁酸体内稳态或患有胆汁酸有关或相关疾病的受试者。本发明的肽序列也可以可用于其他血糖过多相关的疾病,包括肾损伤(例如,肾小管损伤或肾病),肝变性、眼损伤(例如,糖尿病视网膜病或白内障),和糖尿病足病;异常血脂症及其后遗症如,例如,动脉粥样硬化、冠状动脉病、脑血管疾病等。

[0347] 可能与代谢综合征相关的其他病症,如肥胖症和升高的体重(包括其共同病态如但不限于,非酒精性脂肪肝病(NAFLD),非酒精性脂肪性肝炎(NASH),和多囊卵巢综合征(PCOS)),并且还包括血栓症,凝固性过高和促血栓状态(动脉和静脉),高血压(包括门静脉高压(定义为大于5mm Hg的肝静脉压力梯度(HVPG)),心血管病,中风和心脏衰竭;其中涉及炎性反应的疾病或病症,包括动脉粥样硬化,慢性炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎),哮喘,红斑狼疮,关节炎,或其他炎性风湿性疾病;细胞周期或细胞分化过程的疾病,如脂肪细胞肿瘤,脂肪瘤,包括,例如,脂肪肉瘤,实体瘤和赘生物;神经退行性疾病和/或中枢和外周神经系统的脱髓鞘疾病和/或涉及神经炎症过程的神经系统疾病和/或其他周围神经病变,包括阿尔茨海默病,多发性硬化,帕金森病,进行性多灶性白质脑病和吉兰-巴雷综合征;皮肤和皮肤病和/或伤口愈合过程的疾病,包括红细胞-鳞状皮肤病(erythema-squamous dermatoses);和其他疾病如X综合征,骨关节炎,和急性呼吸窘迫综合征。

[0348] 如本文使用的,当提及受试者的病症使用时,术语“胆汁酸有关或相关疾病”是指在受试者中存在的瞬时或慢性异常的胆汁酸(一种或多种胆汁酸)水平。该病症可以通过胆汁酸合成、代谢或吸收的抑制、减少或延迟以使受试者表现出在正常受试者中不是典型地存在的胆汁酸水平而引起。

[0349] 如本文中公开的,本发明包括预防(例如,在倾向于具有特定疾病的受试者中)、延迟、减慢或抑制胆汁酸有关或相关疾病的进展、发作,或治疗(例如减轻)胆汁酸有关或相关疾病,相对于相当年龄、性别、种族等的恰当匹配受试者)。因此,在各种实施方式中,本发明的用于例如调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病的方法包括接触或施用以有效调节胆汁酸体内稳态或治疗胆汁酸有关或相关疾病的量的本文中所述的本发明肽(例如,如表1-10或序列表中所述的FGF19和/或FGF21的变体或融合体)。

[0350] 此外,本发明包括预防(例如,在倾向于具有特定疾病的受试者中)、减慢或抑制不期望的胆汁酸水平或异常低的胆汁酸水平的进展、或延迟其发作,或对其治疗,其全都(单独或组合地)可以导致,例如胆汁酸有关或相关疾病。例如,这样的疾病可能由于,例如,遗传倾向性或饮食所致。

[0351] 术语“受试者”是指动物。典型地,所述动物是将受益于用本发明的肽序列治疗的哺乳动物。特定的实例包括灵长类(例如,人)、狗、猫、马、奶牛、猪和绵羊。

[0352] 受试者包括具有疾病的那些,例如,胆汁酸相关或有关疾病,如代谢综合征;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC,PFIC,PSC,PIC、新生儿胆汁郁积,和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),以及肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病,包括回肠切除、炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎),损害胆汁酸吸收而没有表征(特应性)的疾病),导致腹泻(例如,BAD)和GI症状,和GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常,如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压的那些;或不具有疾病但可能处于发展该疾病的风险的受试者。

处于发展胆汁酸相关或有关疾病的风险的受试者包括,例如,其饮食可以有助于发展急性或代谢综合征的那些;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),以及肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病,包括回肠切除、炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎),损害胆汁酸吸收而没有表征(特应性)的疾病,导致腹泻(例如,BAD)和GI症状,和GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常,如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压的那些;以及可能具有家族史或朝向发展胆汁酸相关或有关疾病的遗传倾向性的那些,如代谢综合征;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),以及肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病,包括回肠切除,炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎),损害胆汁酸吸收而没有表征(特应性)的疾病,导致腹泻(例如,BAD)和GI症状,以及GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常,如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压的那些。

[0353] 如本文中公开的,治疗方法包括接触或施用以在受试者中有效实现所需成果或结果的量的本文中所述的本发明肽(例如,如表1-10或序列表中所述的FGF19和/或FGF21的变体或融合体)。导致所需成果或结果的治疗包括在受试者中降低、减少或预防所述病症的一种或多种症状的严重性或频率,例如,改善受试者的病症,或“有益效果”或“治疗效果”。因此,治疗可以降低或减少或预防所述病症的一种或多种症状的严重性或频率,稳定或抑制所述病症的进展或恶化,并且在一些情况下,反转所述疾病,短暂的(例如,持续1-6、6-12或12-24小时),持续中期(例如,1-6、6-12、12-24或24-48天)或长期(例如,持续1-6、6-12、12-24、24-48周,或多于24-48周)。因此,在胆汁酸相关或有关疾病的情况下,如代谢综合征;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病,包括回肠切除、炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎)、损害胆汁酸吸收而没有表征(特应性)的疾病,导致腹泻(例如,BAD)和GI症状,以及GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常,如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压的那些;例如,治疗可以降低或减少胆汁酸相关或有关疾病的一种或多种症状或作用。

[0354] 用于用途和/或用于治疗受试者的“有效量”或“足够量”是指这样的量,其在单个或多个剂量中,单独或联合一种或多种其他组合物(治疗剂,如用于血糖过高症的药物或治疗)、治疗、方案或治疗方案,对受试者提供任何持续时间(短暂的、中期的或长期的)的可检测反应、任何可测量或可检测程度或达到任何持续时间(例如,持续几小时、几天、几天、几年或治愈)的期望成果或客观或主观利益。这样的量典型地是在可测量的程度上有效减轻疾病,或所述疾病的一种、多种或全部不良症状、后果或并发症,尽管减少或抑制所述疾病的进展或恶化也被认为是满意的成果。

[0355] 如本文使用的,术语“减轻”是指受试者的病症的改善、所述疾病的严重度的降低、或所述疾病的进展或恶化的抑制(例如,使所述疾病稳定)。在胆汁酸相关或有关疾病(例如,代谢综合征;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩,胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病,包括回肠切除,炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎),损害胆汁酸吸收而没有表征(特应性)的疾病),导致腹泻(例如,BAD)和GI症状,以及GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常,如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压的那些的情况下,例如,改善可以所述疾病的一种或多种症状或作用的降低或减少。

[0356] 因此,治疗益处或改善不需要是完全消除与所述疾病或病症相关的任何一种、大多数或全部症状、并发症、结果或潜在的病因。因此,在一段持续时间(几小时,几天,几周,几月等)内,当在受试者状况中存在短暂的、中期或长期的增量改善,或在所述疾病或病症的发生、频率、严重度、进展或持续时间,或一种或多种相关不良症状或并发症或结果或潜在病因、恶化或进展的抑制或反转(例如,使所述病症、障碍或疾病的一种或多种症状或并发症稳定)有部分减少时,就获得了满意的终点。

[0357] 因此,在通过本发明的肽序列可治疗的疾病的情况下,足以减轻疾病的肽的量将取决于所述疾病的类型、严重度和程度、或持续时间、所期望的治疗效果或成果,并且可以容易地由技术人员确定。恰当的量还将取决于个体受试者(例如,受试者内的生物利用度,性别,年龄等)。例如,受试者的正常胆汁酸体内稳态的短暂或部分恢复可以减少用来治疗以下疾病的剂量或频率:代谢综合征;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病,包括回肠切除,炎性肠疾病(例如,克劳恩病和溃疡性结肠炎),损害胆汁酸吸收而没有表征(特应性)的疾病),导致腹泻(例如,BAD)和GI症状,以及GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常,如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压的那些,尽管还没有达到完全的治疗自由。有效量可以例如通过测量一种或多种相关生理效果而确定。

[0358] 用于治疗受试者的本发明的方法和用途适用于预防以防止或减少受试者中的疾病如胆汁酸相关或有关疾病的可能性。备选地,方法和用途可以在受试者治疗期间或之后实施。例如,在使用另一种药物或治疗剂的受试者治疗以改善胆汁酸体内稳态之前、期间或之后,例如,本发明的方法或用途可以,例如,本发明的肽序列可以施用至受试者。另外,本发明的组合物如肽序列可以组合另一种药物或药剂,例如,如胆汁酸稳定药物或治疗剂。

[0359] 因此,用于治疗受试者的本发明的方法和用途可以在另一种治疗之前、基本上同时或之后实施,并且可以补加其他形式的治疗。补充疗法包括其他葡萄糖降低治疗,如胰岛素,胰岛素敏感性增强剂或其他药物治疗,膳食的改变(低糖,脂肪等),减重手术-(通过胃旁路术、胃切除术减少胃体积),胃囊带术,胃气球,胃袖等。例如,用于治疗血糖过多或胰岛素抗性疾病的本发明的方法或用途可以联合在受试者中降低葡萄糖或增加胰岛素敏感性的药物或其他药物组合物使用。

[0360] 本公开内容考虑了与大量药剂(及其种类)的联合疗法,包括1)胰岛素(例如,推注和基础类似物),需要刺激胰岛素分泌的胰岛素模拟物和药剂,包括磺脲类(例如,氯磺丙脲、妥拉磺脲、醋磺环己脲、甲磺丁脲、优降糖、格列美脲、格列甲嗪)和格列奈类(例如,瑞格列奈(PRANDIN)和那格列奈(STARLIX));2)双胍类(例如,二甲双胍(GLUCOPHAGE))和通过促进葡萄糖利用、减少肝葡萄糖产生和/或消除肠葡萄糖输出而起作用的其他药剂;3)α-葡萄糖苷酶抑制剂(例如,阿卡波糖和米格列醇)以及减慢碳水化合物消化并由此减慢来自肠的吸收和减少餐后血糖过高症的其他药剂;4)噻唑烷二酮类(例如,罗西格列酮(洪安达)、曲格列酮(REZULIN)、匹格列酮(ACTOS)、格列甲嗪、巴格列酮、利格列酮、奈托列酮、曲格列酮、恩格列酮、环格列酮、阿达格列酮(adaglitazone)、达格列酮,其增强胰岛素作用(例如,通过胰岛素敏化),由此促进外周组织中的葡萄糖利用;5)胰高血糖素类肽,包括DPP-IV抑制剂(例如,维达列汀(GALVUS)和西格列汀(JANUVIA))和胰高血糖素类肽-1(GLP-1)和GLP-1激动剂和类似物(例如,艾塞那肽(BYETTA)和ITCA650(皮下插入的在12个月内递送艾塞那肽的渗透泵;Intarcia,Boston,MA));6)以及DPP-IV-抗性类似物(肠促胰岛素模拟物)、PPAR γ 激动剂、双重作用PPAR激动剂、pan-作用PPAR激动剂、PTP1B抑制剂、SGLT抑制剂、胰岛素促分泌物、RXR激动剂、糖原合成酶激酶-3抑制剂、免疫调节剂、 β -3肾上腺素能受体激动剂、11 β -HSD1抑制剂、和胰淀素类似物。

[0361] 在某些实施方式中,可以联合本文提供的嵌合肽和方法使用的其他示例性药剂包括二肽基肽酶-4(DPP-4)抑制剂、溴隐亭制剂(例如,和胆汁酸螯合剂(例如,考来维仑)和SGLT-2抑制剂。胃口抑制药物也是熟知的并且可以联合本文中提供的组合物和方法使用.补充疗法可以在本发明方法和用途之前/同时或之后施用。

[0362] 本发明的肽序列,包括例示肽序列的子序列、序列变体和修饰形式(表1-10和序列表中列出的序列),可以以单位剂量或单位剂量型配制。在一个特定实施方式中,肽序列为有效治疗需要治疗的受试者的量,例如,由于异常或反常胆汁酸体内稳态,如代谢综合征;脂质-或葡萄糖-相关疾病;胆固醇或甘油三酯代谢;2型糖尿病;胆汁郁积,包括,例如肝内胆汁郁积的疾病(例如,PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积和药物诱发的胆汁郁积(例如,雌激素)),肝外胆汁郁积的疾病(例如,肿瘤的胆汁切向压缩、胆结石导致的胆管堵塞);胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病,包括回肠切除、炎性肠疾病(例如,克罗恩病和溃疡性结肠炎)、损害胆汁酸吸收而没有表征(特应性)的疾病,导致腹泻(例如,BAD)和GI症状,以及GI、肝和/或胆管癌(例如,结肠癌和肝细胞癌);和/或胆汁酸合成异常,如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压的那些。示例性单位剂量的范围为约25-250、250-500、500-1000、1000-2500或2500-5000、5000-25,000、25,000-50,000ng;为约25-250、250-500、500-1000、1000-2500或2500-5000、5000-25,000、25,000-50,000 μ g;和为约25-250、250-500、500-1000、1000-2500或2500-5000、5000-25,000、25,000-50,000mg。

[0363] 可以施用本发明的肽序列,包括例示肽序列的子序列、序列变体和修饰形式(表1-10和序列表中列出的序列),以提供例如以有效或足够量,作为单个剂量或多个剂量的意图效果。示例性剂量的范围为约25-250、250-500、500-1000、1000-2500或2500-5000、5000-25,000、25,000-50,000pg/kg;为约50-500、500-5000、5000-25,000或25,000-50,000ng/kg;并且为约25-250、250-500、500-1000、1000-2500或2500-5000、5000-25,000、25,000-50,000 μ g/kg。可以施用单个或多个剂量,例如每天多次,在连续多天、每个一天,每周或间

歇地(例如,每周两次,每1、2、3、4、5、6、7或8周一次,或每2、3、4、5或6个月一次)。

[0364] 可以使用本发明的肽序列,包括例示肽序列的子序列、变体和修饰形式(表1-10和序列表中列出的序列),并且方法可以通过任何路线经由全身、区域或局部施用实施。例如,肽序列可以胃肠外(例如,皮下地,静脉内地,肌肉内地或腹膜内地)、经口地(例如,吞入,含服或舌下)、吸入、皮内地、腔内、颅内地、经皮地(局部)、经粘膜地或经直肠地。本发明的肽序列,包括例示肽序列的子序列、变体和修饰形式(表1-10和序列表中列出的序列),以及本发明的方法,包括药物组合物,可以经由(微)封装递送系统施用或包装到用于施用的植入物中。

[0365] 胃肠外(例如,皮下)施用的特定非限制性实例需要使用Intarcia皮下递送系统(Intarcia Therapeutics, Inc.; Hayward, CA)。该系统包括在所需时间内递送一致量的治疗剂的微型渗透泵。除了将药物水平维持在恰当治疗范围内之外,该系统可以与维持蛋白质含水治疗剂在人体温度的稳定性达延长的时间期的制剂一起使用。

[0366] 本发明进一步提供“药物组合物”,其包括本发明的肽序列(或序列),包括例示肽序列的子序列、变体和修饰形式(表1-10和序列表中列出的序列),以及一种或多种药用或生理学可接受的稀释剂、载体或赋形剂。在特定的实施方式中,肽序列或序列已治疗可接受的量存在。药物组合物可以根据本发明方法和用途使用。因此,例如,药物组合物可以体表或体外施用至受试者以实施本发明的治疗方法和用途。

[0367] 本发明的药物组合物可以配制成与意图的施用方法或路线是相容的;示例性的施用录像在本文中展示。另外,药物组合物可以进一步包含本文中公开的其他治疗活性剂或化合物(例如,胆汁酸稳定剂或药物)或技术人员已知的那些,其可以用于治疗或预防本文所述的各种胆汁酸疾病和病症。

[0368] 药物组合物典型地包含治疗有效量的至少一种本发明的肽序列,包括例示肽序列的子序列、变体和修饰形式(表1-10和序列表中列出的序列)以及一种或多种药学和生理学可接受的制剂。合适的药学或生理学可接受的稀释剂、载体或赋形剂包括,但不限于,抗氧化剂(例如,抗坏血酸和硫酸氢钠),防腐剂(例如,苯醇,对羟基苯甲酸甲酯,对羟基苯甲酸乙酯或正丙酯),乳化剂,悬浮剂,分散剂,溶剂,填料,膨胀剂缓冲剂,媒介物、稀释剂和/或佐剂。例如,合适的媒介物可以是生理盐水溶液或柠檬酸盐缓冲盐水,可能补加在用于胃肠外施用的药物组合物中常见的其他材料。中性缓冲盐水或混合有血清白蛋白的盐水是另外的示例性媒介物。本领域技术人员将易于识别可以用于本发明中施用的药物组合物和剂型的各种缓冲剂。典型的缓冲剂包括,但不限于药学可接受的弱酸、弱碱或其混合物。缓冲剂组分还包括水溶性材料如磷酸、酒石酸、乳酸、琥珀酸、柠檬酸、乙酸、抗坏血酸、天冬氨酸、谷氨酸及其盐。

[0369] 媒介物中的主要溶剂可以是性质上为含水的或非水的。另外,媒介物可以含有其他药学接受的赋形剂用于改变或维持药物组合物的pH、渗透压、粘度、无菌性或稳定性。在某些实施方式中,药学可接受的媒介物是含水缓冲液。在其他实施方式中,媒介物包括,例如,氯化钠和/或柠檬酸钠。

[0370] 本发明的药物组合物可以含有仍然其他药学可接受的制剂用于改变或维持本发明肽的释放速率。这样的制剂包括在制备持续释放制剂中计数人员已知的那些物质。对于属于药学和生理学可接受的制剂的进一步参考,参见,例如,Remington's Pharmaceutical

Sciences, 第18版 (1990, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042) 第1435–1712页, The Merck Index, 第12版 (1996, Merck Publishing Group, Whitehouse, NJ); 和 Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Forms (1993, Technonic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pa.)。适用于施用的另外的药物组合物在本领域是已知的并且可应用于本发明的方法和组合物中。

[0371] 药物组合物可以作为溶液、混悬剂、凝胶、乳液、固体或者脱水会冻干粉末储存在无菌小瓶中。这样的组合物可以易于施用形式、需要在使用之前重构的冻干形式、需要在使用之前稀释的液体形式或其他可接受形式储存。在一些实施方式中,药物组合物提供在单次使用的容器(例如,单次使用小瓶,安剖,注射器或自助注射器(类似于,例如EpiPen®)),而在其他实施方式中提供多次使用容器(例如,多次使用小瓶)。任何药物递送设备可以用来递送本发明肽,包括植入物(例如,可植入泵)和导管系统,这二者对于技术人员是已知的。积存注射,其通常是皮下或肌肉内施用,也可以用来在指定时间期内释放本发明肽。积存注射通常是基于固体的或基于油的并且通常包含本文中所述的制剂组分中的至少一种。技术人员熟悉积存注射的可能制剂和用途。

[0372] 药物组合物可以配制为与其意图施用路径相容。因此,药物组合物包含载体、稀释剂或赋形剂,其适用于通过路径,包括胃肠外(例如,皮下(s.c.),静脉内,肌肉内或腹膜内),皮内,经口(吞服),吸入,腔内、颅内和透皮(局部)施用。

[0373] 药物组合物可以为无菌注射含水或含油悬浮液形式。这种悬浮液可以使用本文公开或技术人员已知的合适分散剂或润湿剂和悬浮剂配制。无菌注射制剂也可以是在胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的无菌注射溶液或悬浮液,例如,作为在1,3-丁二醇中的溶液。可以采用的可接受稀释剂、溶剂和分散介质包括水、林格溶液、等张氯化钠溶液、Cremophor EL™(BASF, Parsippany, NJ)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇),及其合适混合物。另外,无菌的不挥发性油常规地用作溶剂或悬浮介质。为此目的,可以采用任何温和的不挥发性油,包括合成的甘油一酯或甘油二酯。此外,脂肪酸如油酸可以用于注射剂的制备。特定注射制剂的延长吸收可以通过包括延迟吸收的试剂(例如,单硬脂酸铝或明胶)而实现。

[0374] 药物组合物可以为适用于经口施用的形式,例如,作为片剂、胶囊、口含片、锭剂、含水或含有混悬剂、可分散粉末或颗粒、溶液、硬或软胶囊、或糖浆、溶液、微珠或酏剂。意图用于经口使用的药物组合物可以根据用于制备药物组合物的本领域已知的任何方法制备。这样的组合物可以含有一种或多种试剂,如甜味剂、调味剂、着色剂和防腐剂,以便提供药学优美和可口制剂。含有本发明肽的片剂可以与适用于制备片剂的无毒药学上可接受的赋形剂的掺混物。这些赋形剂包括,例如,稀释剂,如碳酸钙,碳酸钠,乳糖,磷酸钙或磷酸钠;造粒剂和崩解剂,例如,玉米淀粉,或褐藻酸;粘合剂,例如淀粉、明胶或阿拉伯树胶,润滑剂,例如硬脂酸镁、硬脂酸或滑石。

[0375] 适用于经口施用的片剂、胶囊等可以是未包衣的或者他们可以通过已知技术包衣以延迟在胃肠道中的崩解和吸收并由此提供在延迟时期的持续作用。例如,可以采用延时材料如单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。它们也可以通过本领域已知的技术包衣以形成用于受控释放的等张治疗片剂。另外的试剂包括生物可降解或生物相容性离子或高分子物质如聚酯、聚胺酸、水凝胶、聚乙烯基吡咯烷酮、聚酐、聚乙醇酸、乙烯-乙酸乙烯酯、甲基

纤维素、羧甲基纤维素、硫酸鱼精蛋白或丙交酯/乙交酯共聚物、聚丙交酯/乙交酯共聚物，或乙烯乙酸乙烯酯共聚物，以便控制施用的组合物的递送。例如，经口试剂可以分别俘获在通过凝聚技术或通过界面聚合、通过使用羟甲基纤维素制备的微胶囊中，或明胶微胶囊或聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊中，或在胶态药物递送系统中。胶态分散系统包括大分子复合物、纳米胶囊、微球体、微珠和基于脂质的系统，包括水包油乳液、胶束、混合胶束和脂质体。用于制备这样的制剂的方法对于本领域技术人员是已知的并且可商购获得。

[0376] 用于经口使用的制剂还可以作为其中活性成分与惰性固体稀释剂，例如，碳酸钙、磷酸钙、高岭土或微晶纤维素混合的硬明胶胶囊，或作为其中活性成分与水活油介质，例如花生油、液体石蜡或橄榄油混合的软明胶胶囊呈现。

[0377] 含水悬浮液含有与适于其制备的赋形剂的掺混物的活性材料。这样的赋形剂是悬浮剂，例如羧甲基纤维素钠、甲基纤维素、羟丙基甲基纤维素、藻酸钠、聚乙烯基吡咯烷酮、黄蓍胶和阿拉伯树胶；分散剂或润湿剂可以是天然存在的磷脂，例如卵磷脂，或烯化氧与脂肪酸的缩合物，例如聚氧乙烯硬脂酸，或环氧乙烷与长链脂肪醇的缩合产物，例如十七乙烯氧基十六醇，或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇的偏酯的缩合产物，如聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯，或环氧乙烷与衍生自脂肪酸和己糖醇酐的偏酯的缩合产物，例如聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。含水悬浮液也可以含有一种或多种防腐剂。

[0378] 含油悬浮液可以通过将活性成分悬浮液在植物油，例如花生油、橄榄油、芝麻油或椰子油中，或在矿物油如液体石蜡中配制。含油悬浮液可以含有增稠剂，例如蜂蜡、硬石蜡或鲸蜡醇。可以添加增甜剂如上文所述的那些，以及调味剂以提供可口的口服制剂。

[0379] 适于通过添加水制备含水悬浮液的可分散粉末和颗粒提供与分散剂或润湿剂、悬浮剂和一种或多种防腐剂掺混的活性成分。本文中例示了合适的分散剂或润湿剂以及悬浮剂。

[0380] 本发明的药物组合物也可以为水包油乳液的形式。含油相可以是植物油，如橄榄油或花生油，或矿物油，例如液体石蜡，或这些的混合物。合适的乳化剂可以是天然存在的树胶，例如阿拉伯树胶或黄蓍胶；天然存在的磷脂，例如，大豆，卵磷脂，和衍生自脂肪酸的酯或偏酯；己糖醇酐，例如，脱水山梨糖醇单油酸酯；以及偏酯与环氧乙烷的缩合产物，例如，聚氧乙烯脱水山梨糖醇单油酸酯。

[0381] 药物组合物也可以包括载体以保护组合物免于快速降解或从身体消除，如受控释放制剂，包括植入物、脂质体、水凝胶、前药和微封装递送系统。例如，可以采用时间延迟材料，如单独或与蜡组合的单硬脂酸甘油酯或硬脂酸甘油酯。可注射药物组合物的延长吸收可以通过包括延迟吸收的试剂如单硬脂酸铝或明胶而实现。微生物作用的防止可以通过各种抗菌剂和抗真菌剂，例如，尼泊金酯、氯丁醇、苯酚、抗坏血酸硫柳汞等实现。

[0382] 本发明还包括以用于直肠施用的栓剂形式的本发明肽。所述栓剂通过将本发明肽与在常温下为固体但在直肠温度下为液体的合适非刺激性赋形剂混合制备，并且因此将在直肠中熔化而释放药物。这样的材料包括，但不限于，可可油和聚乙二醇。

[0383] 根据本发明，提供了鉴别调节胆汁酸体内稳态而不具有显著HCC活性的肽(或如本文中所述的子序列、变体或修饰形式)的方法。在一种实施方式中，一种方法包括：提供候选肽序列；将所述候选肽序列施用至试验动物；在施用所述候选肽序列后测量所述动物的胆汁酸水平，以确定所述候选肽序列是否调节胆汁酸体内稳态；和分析所述候选肽序列对于

所述动物中的HCC的诱导、或与HCC活性相关的标志物物的表达。调节胆汁酸体内稳态但不具有显著HCC活性的候选肽，由此鉴别调节胆汁酸体内稳态而没有显著HCC活性的肽序列。

[0384] 术语“测定”和“测量”及其语法变形在本文中可互换使用并且是指定性或定量确定，或定性和定量确定二者。当该术语提及检测使用时，考虑评估相关量的任何方式，包括本文中所述的和本领域已知的各种方法。例如，胆汁酸和前体，如7 α -羟基-4-胆甾烯-3-酮，可以在来自受试者的样品(例如，血清)中测定或测量。另一个非限制性实例是使用血清或肝素化血浆的双反应法(Randox Laboratories, Ltd.)。在第一反应中，胆汁酸被3- α -羟基类固醇脱氢酶氧化，伴随作为结果发生的硫代-NAD至硫代-NADH的还原。在第二反应中，氧化的胆汁酸被同一种酶还原，作为结果发生的NADH至NAD的氧化。硫代-NADH的形成速率通过在405nm测量特异性吸光度变化而确定。

[0385] 对于HCC的风险因子，最常见类型的肝癌，包括2型糖尿病(可能通过肥胖症恶化)。2型糖尿病中的HCC的风险更大(为非糖尿病性风险的~2.5至~7倍)，这取决于糖尿病和治疗方案的持续时间。

[0386] 各种方法可以用于HCC的筛选和诊断，并且对于技术人员是熟知的。HCC的指示包括肿瘤制造者的检测，如升高的胎蛋(AFP)或脱- γ -羧基凝血酶原(DCP)水平。大量不同的扫描和成像技术也是有帮助的，包括超声成像、CT扫描和MRI。关于本发明，肽(例如，候选肽)是否表现出诱导HCC的证据的评价可以相比于通过野生型FGF19的HCC结节形成，通过例如在施用了肽的动物模型，如db/db小鼠中定量HCC结节形成在体内确定。宏观地，肝癌可以是结节性的，其中肿瘤结节(其是圆形至椭圆形的，灰色或绿色的，良好划界的但没有包封的)呈现为一个大团块或多个较小团块。备选地，HCC可以呈现为浸润性肿瘤，其是扩散性的并且较差划界的，并且经常浸润门静脉。

[0387] 肝组织样品的病理评估通常在一种或多种前述技术的结果指示可能存在HCC之后进行。因此，本发明的方法可以进一步包括评估来自可用于HCC研究的体内动物模型(例如，db/db小鼠)的肝组织样品以便确定肽序列是否表现出诱导HCC的证据。通过微观评估，病理学家可以确定HCC的四种通常结构和细胞学类型(模式)是否存在(即，纤维板层(腺样的)、多态性的(巨大细胞)和透明细胞)。

[0388] 本发明还包括抗体及其片段的产生和使用，该抗体及其片段结合本发明的肽序列，包括例示肽序列的子序列、序列变体和修饰形式(包括表1-10和序列表中列出的肽)。

[0389] 如本文使用的，术语“抗体”(Ab)和“免疫球蛋白”(Ig)是指具有相同结构特性的糖蛋白。尽管抗体表现出对抗原的结合特异性，但是免疫球蛋白包括抗体和可能缺乏抗原特异性的其他抗体类分子二者。

[0390] 术语“抗体”包括完整的单克隆抗体、多克隆抗体、形成自至少两个完整抗体的多特异性抗体(例如，双特异性抗体)，以及抗体结合片段，包括Fab和F(ab')₂，条件是它们表现出所需的生物学活性。基本抗体结构单元包括四聚体，并且每个四聚体由两对相同的多肽链构成，每一对具有一个“轻”链(约25kDa)和一个“重”链(约50-70kDa)。每条链的氨基末端部分包括主要负责抗原识别的约100至110个或更多个氨基酸的可变区。相反，每条链的羧基末端部分定义主要负责效应子功能的恒定区。人轻链分类为 κ 和 λ 轻链，而人重链分类为 μ 、 Δ 、 γ 、 α 或 ϵ ，并且将抗体同种型分别定义为IgM、IgD、IgA和IgE。结合片段通过重组DNA技术、或通过完整抗体的酶或化学裂解生产。结合片段包括Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv和单

链抗体。

[0391] 每个重链具有在一个末端的可变结构域(VH),随后是大量恒定结构域。每个轻链具有在一个末端的可变结构域(VL)和在其另一个末端的恒定结构域;轻链的恒定结构域与重链的第一恒定结构域对齐,并且轻链可变结构域与重链的可变结构域对齐。在轻链和重链内,可变区和恒定区通过约12个或更多个氨基酸的“J”区接合,其中重链还包括约10个或更多个氨基酸的“D”区。抗体链都表现出通过三个超可变区接合的相对保守读框区(FR)的相同总体结构,也称为互补性决定区或CDR。来自每一对的两个链的CDR通过读框区对齐,使得能够结合至特异性表位。从N-末端至C-末端,轻链和重链都包含结构域FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3和FR4。

[0392] 完整抗体具有两个结合位点,并且除了在双功能或双特异性抗体中,该两个结合位点是相同的。双特异性或双功能性抗体是具有两个不同重/轻链对和两个不同结合位点的人工杂合抗体。双特异性抗体可以通过各种方法,包括杂交瘤的融合或Fab'片段的连接而生产。

[0393] 如本文使用的,术语“单克隆抗体”是指获自基本上同源抗体的种族的抗体,即除了可能天然存在的突变(可能少量存在),包含该种族的个体抗体是相同的。单克隆抗体是高度特异性的,针对单个抗原位点。与多克隆抗体制备(其包括针对不同抗原决定簇(表位)的不同抗体)相反,每个单克隆抗体针对抗原上的单个抗原决定簇。

[0394] “中和抗体”是能够消除后显著降低其结合的靶抗原的效应子作用的抗体分子。

[0395] 抗体结合片段可以通过完整抗体的酶或化学裂解生产。抗体利用酶木瓜蛋白酶的消化导致两个相同的抗原结合片段,也称为“Fab”片段,和不具有抗原结合活性的“Fc”片段。抗体利用酶胃蛋白酶的消化导致F(ab')₂片段,其中该抗体分子的两个臂保持连接并且包含两个抗原结合位点。F(ab')₂片段具有交联抗原的能力。

[0396] 术语“Fab”是指包含轻链的恒定结构域和重链的CH1结构域的抗体的片段。当在本文中使用时,术语“Fv”是指保持抗原识别和抗原结合位点二者的抗体的最小片段。在两条链Fv物种中,此区由一个重链和一个轻链可变结构域以非共价缔合的二聚体组成。在单链Fv物种中,一个重链和一个轻链可变结构域可以通过柔性肽接头共价地连接,以使该轻链和重链可以以类似于两条链Fv物种的“二聚体”结构缔合。在此构造中,每个可变结构域的三个CDR相互作用以定义在VH-VL二聚体表面上的抗原结合位点。尽管六个CDR集中地对抗体提供抗原结合特异性,但是甚至单个可变结构域(或仅包含三个对抗原特异性的CDR的Fv的一半)具有识别和结合抗原的能力。

[0397] 术语“互补性决定区”或“CDR”是指与特异性配体形成接触并且决定其特异性的免疫学受体的部分。术语“超可变区”是指负责抗原结合的抗体的氨基酸残基。超可变区通常包括来自“互补性决定区”或“CDR”的氨基酸残基和/或来自“超可变环”那些残基。

[0398] 如本文使用的,术语“表位”是指蛋白质抗原上用于抗体的结合位点。表位决定簇通常由分子的化学活性表面定组如氨基酸或糖侧链,以及特异性三维结构和电荷特性组成。抗体被说成当离解常数为≤1μM,优选≤100nM,并且最优选≤10nM时结合抗原。增大的平衡常数(“K_D”)是指在表位和抗体之间有较小亲和力,而降低的平衡阐述是指表位和抗体之间有较高亲和力。具有的K_D为“不大于”某一量的抗体是指该抗体以所给出的K_D或更强地结合至表位。而K_D描述表位和抗体的结合特性,“效力”描述抗体本身对于所述抗体抗体的

功能的有效性。在平衡常数和效力之间不必需地存在关联；因此，例如，相对低的 K_D 不自动地意味着高效力。

[0399] 提及抗体的术语“选择性地结合不意味着所述抗体仅结合至单个物质，而是指所述抗体对第一物质的 K_D 小于所述抗体对第二物质的 K_D 。排他地结合至表位的抗体仅结合至该单个表位。

[0400] 当施用至人时，含有啮齿动物（鼠类或大鼠）可变区和/或恒定区的抗体有时与例如从身体的快速清除或通过身体对所述抗体的免疫反应的产生相关。为了避免利用啮齿动物来源的抗体，完全人抗体可以通过将人抗体功能引入到啮齿动物中以使啮齿动物生产完全人抗体而产生。除非本文中具体鉴别，“人”和“完全人”抗体在本文中可以互换使用。术语“完全人”在将仅部分地人的抗体区别于全部或完全人的那些抗体时可以是有用的。技术人员注意到产生完全人抗体的各种方法。

[0401] 为了解决可能的人抗-小鼠抗体反应，可以利用嵌合或其他方式人源化抗体。嵌合抗体具有人恒定区和鼠类可变区，并因此，在一些患者中可以观察到人抗-嵌合抗体反应。因此，有利地提供针对多聚酶的完全人抗体以便避免可能的人抗-小鼠抗体或人抗-嵌合抗体反应。

[0402] 完全人单克隆抗体可以，例如，通过计数人员已知的技术产生杂交瘤细胞系而制备。其他制备方法涉及使用编码特定抗体的序列用于合适哺乳动物宿主细胞如CHO细胞的转化。转化可以通过用于将多核苷酸引入到宿主细胞中的任何已知方法，包括，例如，将多核苷酸包装在病毒中（或病毒载体中）并用所述病毒（或载体）转导宿主细胞，或通过本领域已知的转染程序。用于将异源多核苷酸引入到哺乳动物细胞中的方法在本领域是熟知的并且包括葡聚糖介导的转染、磷酸钙沉淀、聚凝胺介导的转染、原生质体融合、电穿孔、将多核苷酸封装在脂质体中以及将DNA直接显微注射到细胞核中。可用作用于表达的宿主的哺乳动物细胞系在本领域是熟知的，并且包括，但不限于CHO细胞、HeLa细胞和人肝细胞癌细胞。

[0403] 抗体可以诊断地和/或治疗地使用。例如，抗体可以通过检测受试者中本发明的一种或多种肽的水平，并且将所检测的水平与标准对照水平进行比较或者与之前（例如，在任何疾病之前）确定的受试者中的基线水平相比较而用作诊断剂。抗体可以用作治疗剂以调节本发明的一种或多种肽的活性，由此对病症或疾病具有作用。

[0404] 本发明提供试剂盒，包括，但不限于，本发明的肽序列，任选地联合一种或多种治疗剂、其组合物和药物组合物，包装在合适包装材料中。试剂盒任选地包括标签或包装插入物，包括组分的描述或对于其中的组分的体外、体内或体表使用的说明书。示例性说明书包括对于以下疾病的治疗的说明书：胆汁酸相关或有关疾病，如代谢综合征；脂质-或葡萄糖-相关疾病；胆固醇或甘油三酯代谢；2型糖尿病；胆汁郁积，包括，例如肝内胆汁郁积的疾病（例如，PBC、PFIC、PSC、PIC、新生儿胆汁郁积和药物诱发的胆汁郁积（例如，雌激素）），肝外胆汁郁积的疾病（例如，肿瘤的胆汁切向压缩，胆结石导致的胆管堵塞）；胆汁酸吸收不良和涉及远端小肠的其他疾病，包括回肠切除，炎性肠疾病（例如，克劳恩病和溃疡性结肠炎），损害胆汁酸吸收而没有表征（特应性）的疾病，导致腹泻（例如，BAD）和GI症状，以及GI、肝和/或胆管癌（例如，结肠癌和肝细胞癌）；和/或胆汁酸合成异常，如有助于NASH、肝硬化和门静脉高压的那些等。

[0405] 试剂盒可以含有这样的组分的集合，例如，单独的两种或更多种肽序列，或肽序列

与另一种治疗有用的组合物(例如,胆汁酸体内稳态调节药物)的组合。

[0406] 术语“包装材料”是指容纳试剂盒的组分的物理结构。包装材料可以保持组分无菌,并且可以由通常用于这样的目的的材料(例如,纸、波纹纤维、玻璃、塑料、箔、安瓿瓶、小瓶、管等)制成。

[0407] 本发明的试剂盒可以包括标签或插入物。标签或插入物包括“印刷品”,例如,纸或纸板,单独的或贴至组分、试剂盒或包装材料(例如,箱子),或附着至,例如,容纳试剂盒组分的安剖、管或小瓶。标签或插入物可以另外地包括计算机可读介质,如磁盘(例如,硬盘、卡、存储器磁盘),光盘如CD-或DVD-ROM/RAM、DVD、MP3、磁带或电子存储介质如RAM和ROM或这些的混合物如磁/光存储介质,FLASH介质或存储卡。

[0408] 标签或插入物可以包括其中的一种或多种组分、剂量、活性成分的临床药理学,包括作用机制、药物动力学和药效学的鉴别信息。标签或插入物可以包括鉴别制造商信息、批号、制造位置和日期的信息。

[0409] 标签或插入物可以包括关于可以使用试剂盒组分的病症、障碍、疾病或症状的信息。标签或插入物可以包括对于临床医生或受试者的说明书,用于在方法、治疗策略或治疗方案中使用试剂盒组分的一种或多种。说明书可以包括剂量、频率或持续时间,以及用于实施本文所述的任何方法、治疗策略或治疗方案的说明书。示例性说明书包括对于如本文中所述的肽序列的治疗或使用的说明书。因此本发明的试剂盒可以另外地包括用于实施本文中描述的任何本发明方法和用途(包括治疗方法和用途)的标签或说明书。

[0410] 标签或插入物可以包括关于组分可以提供的任何益处如预防性或治疗性益处的信息。标签或插入物可以包括关于潜在不良副作用的信息,如对受试者或临床医生的关于将不适合使用特定组合物的情形的警告。不良副作用也可能在受试者具有、将会或目前正服用可能与所述组合物不相容的一种或多种其他药物,或受试者具有、将会或目前正经历将与所述组合物不相容的另一治疗策略或治疗方案时发生,并因此,说明书可以包括关于这样的不相容性的信息。

[0411] 本发明试剂盒可以另外地包括其他组分。试剂盒的每种组分可以封装在个体容器内并且全部各种容器可以在单个包装内。发明试剂盒可以设计用于冷储存。发明试剂盒可以进一步设计成容纳本发明的肽序列,或容纳编码肽序列的核酸。试剂盒中的细胞可以保持在恰当储存条件下直至备用。

[0412] 除非另有定义,本文中使用的所有技术和科学术语具有与由本发明所属领域的普通技术人员通常理解的相同含义。尽管类似或等同于本文描述的方法和材料可以用于本发明的实施或测试,但是合适的方法和材料在本文中描述。

[0413] 本文中的所有申请、出版物、专利和其他参考文献、GenBank引证和ATCC引证以其整体通过引用结合于此。在矛盾的情况下,将控制本说明书,包括定义。如本文使用的,单数形式“一个”、“一种”和“该”包括复数指代,除非上下文另有明确指明。因此,例如,“一个肽序列”或一种“治疗”的提及包括多个这样的序列、治疗等等。

[0414] 如本文使用的,在此文件通篇中数值经常以范围形式呈现。使用范围形式仅为了方便简洁而不应解释为对本发明范围的呆板限制,除非另有明确指明。因此,范围的使用明确地包括所有可能的自范围、该范围内的所有单个数值、以及全部数值或数值范围,包括这样的范围内的整数和范围内的数值或整数的分数,除非上下文另有明确指明。无论范围的

宽度并且在本专利文献通篇的所有内容中,这种构成都适用。因此,例如,范围90-100%的提及包括91-99%、92-98%、93-95%、91-98%、91-97%、91-96%、91-95%、91-94%、91-93%等等。范围90-100%的提及还包括91%、92%、93%、94%、95%、95%、97%等,以及91.1%、91.2%、91.3%、91.4%、91.5%、etc.、92.1%、92.2%、92.3%、92.4%、92.5%等等。

[0415] 另外,范围1-3、3-5、5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-60、60-70、70-80、80-90、90-100、100-110、110-120、120-130、130-140、140-150、150-160、160-170、170-180、180-190、190-200、200-225、225-250的提及包括1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20等。在一个进一步的实例中,范围25-250、250-500、500-1000、1000-2500或2500-5000、5000-25,000、5000-50,000的提及包括在这样的值内的后涵盖这样的值的任何数值或范围,例如,25、26、27、28、29…250、251、252、253、254…500、501、502、503、504…等。

[0416] 如本文中也使用的,一系列范围在此文档通篇中公开。使用一系列的范围包括上下范围的组合以提供另一个范围。这种构成不管范围的宽度并且在此专利文档通篇的所有上下文中适用。因此,例如,提及一系列范围如5-10、10-20、20-30、30-40、40-50、50-75、75-100、100-150,包括范围如5-20、5-30、5-40、5-50、5-75、5-100、5-150、和10-30、10-40、10-50、10-75、10-100、10-150、和20-40、20-50、20-75、20-100、20-150等等。

[0417] 为了简要,某些缩写在本文中使用。一个实例是单个字母缩写表示氨基酸残基。该氨基酸及其对应三个字母和单个字母缩写为如下:

- [0418] 丙氨酸 Ala (A)
- [0419] 精氨酸 Arg (R)
- [0420] 天冬酰胺 Asn (N)
- [0421] 天冬氨酸 Asp (D)
- [0422] 半胱氨酸 Cys (C)
- [0423] 谷氨酸 Glu (E)
- [0424] 谷氨酰胺 Gln (Q)
- [0425] 甘氨酸 Gly (G)
- [0426] 组氨酸 His (H)
- [0427] 异亮氨酸 Ile (I)
- [0428] 亮氨酸 Leu (L)
- [0429] 赖氨酸 Lys (K)
- [0430] 蛋氨酸 Met (M)
- [0431] 苯丙氨酸 Phe (F)
- [0432]脯氨酸 Pro (P)
- [0433] 丝氨酸 Ser (S)
- [0434] 苏氨酸 Thr (T)
- [0435] 色氨酸 Trp (W)
- [0436] 酪氨酸 Tyr (Y)
- [0437] 缬氨酸 Val (V)

[0438] 本发明在本文中总体地使用肯定语言披露以描述大量实施方式。本发明还具体地包括这样的实施方式,其中排除了特定主题,全部或部分地,如物质或材料、方法步骤和条件、方案、程序、测定或分析。因此,即使本发明在本文中总体上不以依据本发明不包括什么进行表达,但是没有明确包括在本发明中的方面仍然在本文中公开。

[0439] 已经描述了本发明的大量实施方式。尽管如此,应当理解,在不背离本发明的精神和范围的情况下可以做出各种变形。因此,以下实施例意图举例说明但不是限制权利要求中所描述的本发明的范围。

实施例

[0440] 实施例1

[0441] 以下是在本文的研究中使用的各种方法和材料的描述。

[0442] 动物.db/db小鼠购自Jackson实验室(Bar Harbor, ME)。在受控灯光(12小时亮和12小时暗循环,暗6:30pm-6:30am),温度(22±4°C)和湿度(50%±20%)条件下根据福利指南保持小鼠。小鼠可自由使用水(灭菌蒸馏水)并且随意喂养含有17kcal%脂肪、23kcal%蛋白质和60kcal%糖的商购食物(Harlan Laboratories, Indianapolis, IN, Irradiated 2018 Teklad Global 18% Protain Rodent Diet)。所有动物研究由NGM机构动物护理和使用委员会(NGM Institutional Animal Care and Use Committee)批准。

[0443] DNA和氨基酸序列.编码人FGF19(智人FGF19, GenBank登录号NM_005117.2)变体的OR F的cDNA。由该cDNA编码的蛋白质序列(GenBank登录号NP_005108.1)。

[0444] PCR.FGF19ORF使用从人小肠组织制备的重组DNA(cDNA),利用聚合酶链反应(PCR)扩增。具有Phusion®高保真度DNA聚合酶的PCR试剂盒购自New England BioLabs(F-530L, Ipswich, MA)。使用以下引物:正向PCR引物:

[0445] 5' CCGACTAGTCACCAatgcggagcggtgtgtgg (SEQ ID NO:136)

[0446] 和反向PCR引物:

[0447] 5' ATAAGAATGCGGCCGCTTACTTCTCAAAGCTGGACTCCTC (SEQ ID NO:137)。扩增的DNA片段用限制酶Spe I和Not I(限制位点分别包括在所述5'或3' PCR引物中)消化,然后用已经用相同限制酶消化的AAV转基因载体连接。用于表达的载体含有可选择的标志物并且表达盒由用于插入克隆的编码序列的位点的强真核启动子5',接着是3'未翻译区和牛生长激素多聚腺苷酸化尾构成。表达构建体还在5'和3'末端处侧接有内部末端重复。

[0448] 原代人肝细胞中的Cyp7a1抑制测定.将原代人肝细胞铺到在补加有100nM地塞米松(Sigma)和0.25mg/ml MatriGel™(Becton Dickinson Biosciences)的Williams E培养基(Invitrogen)中胶原涂覆板上。细胞在37°C用FGF19或变体处理6小时。Cyp7a1表达通过定量RT-PCR(TaqMan® ABI PRISM 7700, Applied Biosystems)一式三份地进行评价并标准化至GAPDH表达。

[0449] Cyp7a1体内抑制测定.九周龄雄性db/db小鼠(Jackson Laboratories)腹膜内注射0.1mg/kg、1mg/kg和10mg/kg的重组蛋白质FGF19或FGF21。在注射后5小时将动物处以安乐死。收获肝并在TRIzol®试剂(Invitrogen)中匀化。提取总RNA并用DNA酶(Ambion)处理,接着定量分析并标准化至GAPDH表达。

[0450] AAV的生产和纯化.AAV293细胞(购自Agilent Technologies, Santa Clara, CA)在

补加有10%胎牛血清和1x抗生素-抗真菌溶液(Mediatech, Inc. Manassas, VA)的伊戈尔培养基的Dulbecco改进中培养。将细胞在第一天以50%密度铺在150mm细胞培养板上并利用以下3种质粒(各自20 μ g/板)使用磷酸钙沉淀法在第2天转染:AAV转基因质粒,pHelperTM质粒(Agilent Technologies)和AAV2/9质粒(Gao等人, J. Virol. 78:6381 (2004))。在转染后四十八(48)小时,将细胞从板刮去,通过以3000xg离心成团并再悬浮于含有20mM Tris pH 8.5、100mM NaCl和1mM MgCl₂的缓冲液中。将该悬浮液在酒精干冰浴中冷冻,然后在37°C水浴中解冻。冷冻盒解冻循环重复三次;将Benzonase[®] (Sigma-aldrich, St. Louis, MO)加入至50单位/ml;将脱氧胆酸盐加入至终浓度为0.25%。在37°C温育30分钟后,细胞碎片通过以5000x g离心20分钟成团。上清液中的病毒粒子如之前所述使用不连续的碘克沙醇(Sigma-aldrich, St. Louis, MO)梯度纯化(Zolotukhin S. 等人(1999) Gene Ther. 6:973)。病毒储液使用Vivaspin[®] 20 (MW截止值100,000道尔顿, Sartorius Stedim Biotech, Aubagne, 法国)浓缩并再悬浮在具有10%甘油的磷酸盐缓冲盐水(PBS)中并储存在-80°C。为了确定病毒基因组拷贝数,2 μ l的病毒储液在6 μ l的含有50单位/ml Benzona[®]、50mM Tris-HCl pH 7.5、10mM MgCl₂和10mM CaCl₂的溶液中在37°C温育30分钟。

[0451] 之后,添加15 μ l的含有2mg/ml蛋白酶K、0.5% SDS和25mM EDTA的溶液,并将混合物在55°C再温育20分钟以释放病毒DNA。病毒DNA用微小DNeasy[®] 试剂盒(Qiagen, Valencia, CA)清洗并用40 μ l水洗脱。病毒基因组拷贝(GC)通过使用定量PCR确定。

[0452] 病毒储液用PBS稀释至期望的GC/ml。病毒工作溶液(200 μ l)经由尾静脉注射递送到小鼠中。

[0453] 肝细胞癌(HCC)测定。肝样本在AAV注射后24周收获自db/db小鼠。HCC评分作为来自变体注射小鼠的整个肝的表面上的HCC结节数量除以来自野生型FGF19注射小鼠的HCC结节数量记录。

[0454] 血清FGF19/FGF21/变体曝露水平测定。将来自小鼠尾片断的全血(约50 μ l/小鼠)收集到扁平毛细管(BD Clay Adams SurePrepTM, Becton Dickinson and Co. Sparks, MD)中。血清和血液细胞通过在AutocritTM Ultra 3(Becton Dickinson and Co. Sparks, MD)中旋转管而分离。FGF19、FGF21和变体在血清中的暴露水平根据制造商说明使用EIA试剂盒(Biovendor)确定。

[0455] FGFR4结合和活性测定。固相ELISA(结合)和ERK磷酸化测定可以使用纯化的重组蛋白进行。FGFR结合测定可以使用固相ELISA进行。简言之,96-孔板可以用2 μ g/ml抗-hFc抗体涂覆并且可以用1 μ g/ml FGFR1-hFc或FGFR4-hFc温育。在1 μ g/ml可溶性 β -klotho和20 μ g/ml肝素存在下与FGF19变体的结合可以通过生物素化抗-FGF19抗体(0.2 μ g/mL)检测,随后是链霉亲和素-HRP温育(100ng/mL)。对于FGFR4激活测定,Hep3B细胞可以用FGF19变体在37°C刺激10分钟,然后可以立即溶解并使用从Cis-Bio的商购试剂盒对ERK磷酸化进行测定。

[0456] 实施例2

[0457] 为了确认FGF19变体如在本文中所述的那些抑制cyp7a1表达,在施用各种浓度后确定cyp7a1表达通过野生型FGF19的抑制。FGF21的作用以相当的方式进行评估。

[0458] 简言之,在时间0, db/db小鼠腹膜内服用重组体FGF19(0.1mg/kg; 1mg/kg; 10mg/kg)或重组体FGF21(0.1mg/kg; 1mg/kg; 10mg/kg)。在用药后五小时,收获肝,提取RNA,并且

使用GADPH作为标准化对照通过实时PCR (QPCR) 确定。在每个小鼠组中, n=3, 并且将各种 FGF19和FGF21浓度的cyp7a1表达值与服用PBS媒介对照的小鼠进行比较。

[0459] 如图1中所述的, FGF19以浓度依赖性方式显著地降低cyp7a1表达。尽管施用FGF21引起cyp7a1表达的减少, 但是该作用明显小于用FGF19观察的作用。

[0460] 在人原代肝细胞中变体M70对cyp7a1表达的作用与FGF19相比较。如在图2中注释的, 变体M70以相当于FGF19的量抑制cyp7a1表达。

[0461] 实施例3

[0462] 利用上述的测定, 原代人肝细胞中的cyp7a1的抑制对大量FGF19变体进行确定。如图3-图5中表明的, 若干变体(例如, M1、M2等)表现出强的cyp7a1抑制。

[0463] 为了评价一些另外的FGF19变体对Cyp7a1抑制的作用, 利用体外基于细胞的测定(原代人肝细胞)和体内测定(在db/db小鼠中的蛋白质用药), 其中所述变体与盐水处理的对照进行比较。图5展示表格形式的结果 (IC₅₀和Cyp7a1 (%))。尽管被评价的大多数FGF19变体表现出Cyp7a1抑制活性, 但是一些变体(例如, M90、M96、M98、M5和M32)不再抑制Cyp7a1。

[0464] 保留Cyp7a1抑制活性的FGF19变体可以在上述的HCC测定(或其他相关测定或模型)中进一步评价, 以鉴别这样的变体, 其可能可用于调节胆汁酸代谢和/或治疗胆汁酸相关疾病(例如, 胆汁酸腹泻和原发性胆汁性肝硬化)而不引起HCC的诱导。这些图展示了在HCC测定中评价的变体的数据。

[0465] 实施例4

[0466] 以下是对脂质升高活性和肿瘤发生分析的25个另外的变体肽的数据概述。该数据清楚地显示在脂质升高和肿瘤发生之间的正相关性, 如通过db/db小鼠中的HCC形成确定的。

[0467] 这些表概括了不同的变体肽。这样的例示的变体肽具有在C-末端部分处的 FGF19C-末端序列:

[0468] PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEED CAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETD SMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:188), 例如, 例如在“TSG”氨基酸残基之后。值得注意的是, 不引起脂质的统计学显著性升高的变体肽(总共7个, 包括M5)不诱导HCC形成。相反, 引起脂质的统计学显著性升高的所有变体肽(总共17个)也在小鼠中引起HCC形成。此数据表明, 在脂质升高活性和HCC形成之间存在强烈正相关性。因此, 脂质升高活性可以用作动物中HCC形成的指征和/或预示。

[0469] 表1:在db/db小鼠中升高的甘油三酯和胆固醇看起来与HCC形成正相关(参见SEQ ID NO:99、5和74至81)。

	N-末端结构域	SEQ ID NO.	核心	SEQ ID NO.	脂质升高	HCC形成
[0470]	FGF19 RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI	99 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	+	+
	FGF21 HPIPDSSPLLQ--FGGQV	100 (aa 1-16)	RQRHLYTDD	186	-	-
	M5 R-HIPDSSPLLQ--FGGQV	5 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	-	-
	M74 R ----- DAGPHVHYGWGDPI	74 (aa 1-15)	RLRHLYTSG	185	+	+
	M75 R ----- VHYGWGDPI	75 (aa 1-10)	RLRHLYTSG	185	-	-
	M76 R ----- GDPI	76 (aa 1-5)	RLRHLYTSG	185	-	-
	M77 R -----	77 (aa 1)	RLRHLYTSG	185	-	-
	M78 R ----- AGPHVHYGWGDPI	78 (aa 1-14)	RLRHLYTSG	185	+	+
	M79 R ----- GPHVHYGWGDPI	79 (aa 1-13)	RLRHLYTSG	185	+	+
	M80 R ----- PHVHYGWGDPI	80 (aa 1-12)	RLRHLYTSG	185	-	-
	M81 R ----- HVHYGWGDPI	81 (aa 1-11)	RLRHLYTSG	185	-	-

[0471] 表2:在db/db小鼠中升高的甘油三酯和胆固醇看起来与HCC形成正相关(参见SEQ ID NO:99、100和82至98)。

	N-末端结构域	SEQ ID NO.	核心	SEQ ID NO.	脂质升高	HCC形成
[0472]	FGF19 RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI	99 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	+	+
	FGF21 HPIPDSSPLLQ--FGGQV	100 (aa 1-16)	RQRHLYTDD	186	-	-
	M82 RPLAFSAAGPHVHYGWGDPI	82 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	+	+
	M83 RPLAFSDAAPHVHYGWGDPI	83 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	+/-	+/-
	M84 RPLAFSDAGAHVHYGWGDPI	84 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	+/-	+/-
	M85 RPLAFSDAGPHVHYGAGDPI	85 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	-	-
	M86 RPLAFSDAGPHVHYGWGAPI	86 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	+	+
	M87 RPLAFSDAGPHVHYWGDAI	87 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	+	+

[0473] 表3:在db/db小鼠中升高的甘油三酯和胆固醇看起来与HCC形成正相关(参见SEQ ID NO:99、100和88至98)

	N-末端结构域	核心	SEQ ID NO	脂质升高	HCC形成
[0474]	FGF19 RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI	RLRHLYTSG	99 (aa 1-29)	+	+
	FGF21 HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RQRHLYTDD	100 (aa 1-25)	-	-
	H31A/S141A(M88)	FGF19		+	+
	H31A/H142A(M89)	FGF19		+	+
	K127A/R129A(M90)	FGF19		+	+
	K127A/S141A(M91)	FGF19		+	+
	K127A/H142A(M92)	FGF19		+	+
	R129A/S141A(M93)	FGF19		+	+
	S141A/H142A(M94)	FGF19		+	+
	K127A/H142A(M95)	FGF19		+	+
	K127A/R129A/S141A(M96)	FGF19		+	+
	K127A/R129A/H142A(M97)	FGF19		+	+
	K127A/R129A/S141A/H142A(M98)	FGF19		+	+

[0475] M88 (H31A/S141A) :

[0476] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHYTSGPAGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLAHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:88)

[0477] M89 (H31A/H142A) :

[0478] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHYTSGPAGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSAFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:89)

[0479] M90 (K127A/R129A) :

[0480] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV

AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAAQALYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:90)

[0481] M91 (K127A/S141A) :

[0482] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAAQRQLYKNRGFLPLAHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:91)

[0483] M92 (K127A/H142A) :

[0484] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAAQRQLYKNRGFLPLSAFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:92)

[0485] M93 (R129A/S141A) :

[0486] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAKQAQLYKNRGFLPLAHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:93)

[0487] M94 (S141A/H142A) :

[0488] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAKQRQLYKNRGFLPLAFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:94)

[0489] M95 (K127A/H142A) :

[0490] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAAQRQLYKNRGFLPLSAFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:95)

[0491] M96 (K127A/R129A/S141A) :

[0492] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAAQALYKNRGFLPLAHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:96)

[0493] M97 (K127A/R129A/H142A) :

[0494] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAAQALYKNRGFLPLSAFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:97)

[0495] M98 (K127A/R129A/S141A/H142A) :

[0496] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSLSSAAQALYKNRGFLPLAFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETSDMDPFGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:98)

[0497] 实施例5

[0498] 以下是对葡萄糖降低活性和脂质升高活性分析的另外的FGF19变体肽的数据概括。

[0499] 表4示出了35个另外的FGF19变体(表示为M5至M40)的肽“核心序列”。这样例示的变体肽具有在C-末端部分的FGF19C-末端序列, PHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVAL

RTVAIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLS HFLPMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETSDMDPFGLVTLGEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:188), 例如, 在核心序列的“TSG”氨基酸残基之后。该数据清楚地显示, 在db/db小鼠中变体M6、M7、M8、mM38和M39具有期望的葡萄糖降低活性的特性和不统计学显著性地脂质升高活性。

[0500] 表4: 另外的变体和N-末端结构域的精细定位(参见SEQ ID NO:99,100,和5至40)

[0501]	N-末端结构域	N-末端结构域的 SEQ ID NO	核心	SEQ ID NO.	葡萄糖	脂质
					降低	升高
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDP I	99 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	+	+
FGF21	-HPIPDSPLLQ--FGGQV	100 (aa 1-16)	RQRHLYTDD	186	+	-
M5	RHIPDSSPLLQ--FGGQV	5 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	+	-
M6	R---DSSPLLQ--FGGQV	6 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	+	-
M7	RPLAFSDSSPLLQ--FGGQV	7 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	+	-
M8	R-HIPDSSPLLQ--WGDP I	8 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	+	-
M9	R-HIPDSSPLLQFGWGDPI	9 (aa 1-19)	RLRHLYTSG	185	+	+
M10	R-HIPDSSPHVHYGWGDPI	10 (aa 1-19)	RLRHLYTSG	185	-	+
M11	RPLAFSDAGPLLQ--WGDP I	11 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M12	RPLAFSDAGPLQFGWGDPI	12 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	-	+
M13	RPLAFSDAGPLLQ--FGGQV	13 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	-	-
M14	R-HIPDSSPHVHYG--GQV	14 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	-	-
M15	RPLAFSDAGPHVHYG--GQV	15 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	+	+
M16	RPLAFSDAGPHVH--WGDP I	16 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M17	RPLAFSDAGPHV--GWGDPI	17 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M18	RPLAFSDAGPH--YGWGDPI	18 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M19	RPLAFSDAGP-V-YGWGDPI	19 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M20	RPLAFSDAGP-VH-GWGDPI	20 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M21	RPLAFSDAGP-VHY-WGDPI	21 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M22	RPLAFSDAGPHVH-GWGDPI	22 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M23	RPLAFSDAGPH-H-GWGDPI	23 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M24	RPLAFSDAGPH-HY-WGDPI	24 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M25	RPLAFSDAGPHV-Y-WGDPI	25 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M26	RPLAFSDSSPLVH--WGDP I	26 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M27	RPLAFSDSSPHVH--WGDP I	27 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M28	RPLAFSDAPHV----WGDP I	28 (aa 1-16)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M29	RPLAFSDAGPHVHY-WGDPI	29 (aa 1-19)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M30	RPLAFSDAGPHVHYAWGDPI	30 (aa 1-20)	RLRHLYTSG	185	N/D	N/D
M31	R-HIPDSSPLLQ--FGAQV	31 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	+/-	-
M32	R-HIPDSSPLLQ--FGIYQV	32 (aa 1-18)	RLRHLYTSG	185	-	-
M33	R-HIPDSSPLLQ--FGGQV	33 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	-	-
M34	R-HIPDSSPLLQ--FGGAV	34 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	+/-	-
M35	R-HIPDSSPLLQ--FGGEV	35 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	+/-	+/
M36	R-HIPDSSPLLQ--FGGQV	36 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	+/-	-
M37	R-HIPDSSPLLQ--FGGU A	37 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	-	-
M38	R-HIPDSSPLLQ--FGGQT	38 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	+	-
M39	R-HIPDSSPLLQ--FGGQT	39 (aa 1-17)	RLRHLYTSG	185	+	-
M40	R-HIPDSSPLLQFGWGP Q	40 (aa 1-16)	RLRHLYTSG	185	-	+

[0502] 表4a: (参见SEQ ID NOS:99、100、5、9、8、12、10、13、15、14、43、6和7、)

	N-末端结构域 核心	SEQ ID NO.	葡萄糖 降低	脂质 升高	HCC 形成
[0503]	FGF19 RPLAFSDAGPHVHYGWDPI RLRHLYTSG	99 (aa 1-29)	+	+	+
	FGF21 HPIPDSPLLQ--FGGQV RQRHLYTDD	100 (aa 1-25)	+	-	-
	M5 R-HPIPDSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	5 (aa 1-26)	+	-	-
	M9 R-HPIPDSPLLQFGWDPI RLRHLYTSG	9 (aa 1-28)	+	+	+
	M8 R-HPIPDSPLLQ--WGDPI RLRHLYTSG	8 (aa 1-26)	+	+	+
	M12 RPLAFSDAGPLLQFGWDPI RLRHLYTSG	12 (aa 1-29)	-	+	+
	M10 R-HPIPDSPLVHYGWDPI RLRHLYTSG	10 (aa 1-28)	-	+	+
	M13 RPLAFSDAGPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	13 (aa 1-27)	-	+	+
	M15 RPLAFSDAGPHVHYG--GQV RLRHLYTSG	15 (aa 1-27)	-	-	+/-
	M14 R-HPIPDSPLVHYG--GQV RLRHLYTSG	14 (aa 1-26)	-	-	+/-
	M43 RPLAFSDAGPHVHYG-GD-I RLRHLYTSG	43 (aa 1-27)	+	-	+/-
	M6 R----DSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	6 (aa 1-22)	+	-	-
	M7 RPLAFSDSSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	7 (aa 1-27)	-	-	-

[0504] 表4b: (参见SEQ ID NO:99、5和31至40)

	N-末端结构域 核心	SEQ ID NO.	葡萄糖 降低	脂质 升高	HCC 形成
[0505]	FGF19 RPLAFSDAGPHVHYGWDPI RLRHLYTSG	99 (aa 1-29)	+	+	+
	FGF21 HPIPDSPLLQ--FGGQV RQRHLYTDD	100 (aa 1-25)	+	-	-
	M5 R-HPIPDSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	5 (aa 1-26)	+	-	-
	M31 R-HPIPDSPLLQ--FGAQV RLRHLYTSG	31 (aa 1-26)	+	-	+
	M32 R-HPIPDSPLLQ--FGDQV RLRHLYTSG	32 (aa 1-26)	+	-	-
	M33 R-HPIPDSPLLQ--FGPQV RLRHLYTSG	33 (aa 1-26)	-	-	+
	M34 R-HPIPDSPLLQ--FGGAV RLRHLYTSG	34 (aa 1-26)	-	-	+
	M35 R-HPIPDSPLLQ--FGGEV RLRHLYTSG	35 (aa 1-26)	-	-	+
	M36 R-HPIPDSPLLQ--FGGNV RLRHLYTSG	36 (aa 1-26)	+	-	+/-
	M37 R-HPIPDSPLLQ--FGGQA RLRHLYTSG	37 (aa 1-26)	-	-	+
	M38 R-HPIPDSPLLQ--FGGQI RLRHLYTSG	38 (aa 1-26)	-	-	+
	M39 R-HPIPDSPLLQ--FGGQT RLRHLYTSG	39 (aa 1-26)	-	-	+
	M40 R-HPIPDSPLLQFGWGPV RLRHLYTSG	40 (aa 1-28)	-	+	+

[0506] 表4c: (参见SEQ ID NO:99、100、5、52、54至68、4、69、70和53)

	N-末端结构域	核心	SEQ ID NO.	葡萄糖降低	脂质升高	HCC形成
[0507]	FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWDPI RLRHLYTSG	99 (aa 1-29)	+	+	+
	FGF21	HPIPDSPLLQ--FGGQV RQRHLYTDD	100 (aa 1-25)	+	-	-
	M5	R-HPIPDSPLLQ--FGGQV RLRHLYTSG	5 (aa 1-26)	+	-	-
	M52	R----DSSPLLQ--WGDPI RLRHLYTSG	52 (aa 1-22)	+	+	-
	M54	RPLAFSDAGPLLQ--WGDPI RLRHLYTSG	54 (aa 1-27)	-	+	+
	M55	RPLAFSDAGPH--YWGDPPI RLRHLYTSG	55 (aa 1-27)	-	+	+
	M56	RPLAFSDAGP-V-YWGDPPI RLRHLYTSG	56 (aa 1-27)	-	+	+
	M57	RPLAFSDAGP-VT-GWGDPI RLRHLYTSG	57 (aa 1-27)	-	+	+
	M58	RPLAFSDAGP-VHY-WGDPI RLRHLYTSG	58 (aa 1-27)	-	+	+
	M59	RPLAFSDAGPH-H-GWGDPI RLRHLYTSG	59 (aa 1-27)	-	+	+
	M60	RPLAFSDAGPH-HY-WGDPI RLRHLYTSG	60 (aa 1-27)	-	+	+
	M61	RPLAFSDAGPHV--GWGDPI RLRHLYTSG	61 (aa 1-27)	-	+	+
	M62	RPLAFSDAGPHV-Y-WGDPI RLRHLYTSG	62 (aa 1-27)	-	+	+
	M63	RPLAFSDAGPHVH--WGDPI RLRHLYTSG	63 (aa 1-27)	+	+	+
	M64	RPLAFSDSSPLVH--WGDPI RLRHLYTSG	64 (aa 1-27)	+	+	+
	M65	RPLAFSDSSPHVH--WGDPI RLRHLYTSG	65 (aa 1-27)	-	+	+
	M66	RPLAFSDAGPHLQ--WGDPI RLRHLYTSG	66 (aa 1-27)	+	+	+
	M67	RPLAFSDAGPHV---WGDPI RLRHLYTSG	67 (aa 1-26)	-	-	+/-
	M68	RPLAFSDAGPHVHY-WGDPI RLRHLYTSG	68 (aa 1-28)	-	+	-
	M4	RPLAFSDAGPHVHYAWGDPI RLRHLYTSG	4 (aa 1-29)	+	+	+
	M69	R----DSSPLVHYGWDPI RLRHLYTSG	69 (aa 1-24)	+	+	-
	M70	MR----DSSPLVHYGWDPI RLRHLYTSG	70 (aa 1-25)	+	+	-
	M53	M----DSSPLLQ--WGDPI RLRHLYTSG	192 (aa 1-22)	+	+	-

[0508] 表5示出了另外的变体的肽序列。

[0509] 表5: 另外的变体 (SEQ ID NO:41、42和44-46)

[0510] M41:

[0511] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPEPPGILAPQPPDVGSMDPLSMVGPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO:41)

[0512] M42:

[0513] HPIPDSPLLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKG
VHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP
EPPGILAPQPPDVGSMDPLSMVGPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO:42)

[0514] M44:

[0515] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKAIKPGVIQ
ILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHF DPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP
GLPPALPEPPGILAPQPPDVGSMDPLSMVGPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO:44)

[0516] M45:

[0517] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPCVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHPDPAPRGPARFLPLPGLPP
ALPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:45)

[0518] M46:

[0519] RPLAFSDAGPHVHYGWDPIRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQ
ILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLP
GLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVT
GLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:46)

[0520] 表6示出了3个FGF19变体的肽序列,表示为M1、M2和M69。数据清楚地显示,这三种变体在db/db小鼠中具有所期望的葡萄糖降低活性的特性。这三种变体看起来在db/db小鼠中升高脂质。

[0521] 表6:另外的变体 (SEQ ID NO:1、2和69)

[0522] M1:

[0523] RPLAFSDASPHVHYGWDPIRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:1 or 139)

[0524] M2:

[0525] RPLAFSDSSPLVHYGWDPIRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:2 or 140)

[0526] M69:

[0527] RDSSPLVHYGWDPIRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEKAVALRTVAIKGV
HSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPM
VPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (SEQ ID NO:69)

[0528] 实施例6

[0529] 以下的数据概括显示,FGF19减少在膳食诱发的肥胖小鼠中和在ob/ob小鼠中的体重,以及在db/db小鼠中的肝肿瘤形成活性和体重。

[0530] 向小鼠注射在AAV载体中的FGF19或FGF21。在注射后4周记录体重。

[0531] 表7:FGF19减少在膳食诱发的肥胖小鼠中和在ob/ob小鼠中的体重(序列分别对应于SEQ ID NO:99的aa 1-29和SEQ ID NO:100的aa 1-25)

	N-末端结构域	核心	<u>DIO 中的</u>	<u>Ob/ob 中的</u>
			<u>体重降低</u>	<u>体重降低</u>
[0532]	FGF19 RPLAFSDAGPHVHYGWDPI RLRHLYTSG		+	+
	FGF21 HPIPDSSPLLQ--FGGQV RQRYLYTDD		+	+

[0533] 表8:在db/db小鼠中FGF19、FGF21和所选变体的体重和肝肿瘤形成的相关性(参见,例如,SEQ ID NO:99、100、5、6、32、52和69)

[0534]		N-末端结构域	核心	SEQ ID NO	肝肿瘤 结节	体重
	FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWDPI	RLRHLYTSG	99 (aa 1-29)	+	增加
	FGF21	HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RQRILYTDD	100 (aa 1-25)	-	降低
	M5	R-HPIPDSSPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	5 (aa 1-26)	-	增加
	M6	R-----DSSPLLQ--FGGQV	RLRHLYTSG	6 (aa 1-22)	-	降低
	M32	R-HPIPDSSPLLQ--FGDQV	RLRHLYTSG	32 (aa 1-26)	-	降低
	M52	R-----DSSPLLQ--WGDPI	RLRHLYTSG	52 (aa 1-22)	-	降低
	M69	R-----DSSPLVHYGWDPI	RLRHLYTSG	69 (aa 1-24)	-	增加

[0535] 实施例7

[0536] 以下的研究显示了变体M5和变体M69肽降低血糖。

[0537] 小鼠 (ob/ob) 注射 (皮下地) M5 (0.1和1mg/kg, s.c.) 或 FGF19 (1mg/kg, s.c.) , 或变体M69 (0.1和1mg/kg, s.c.) 或 FGF19 (1mg/kg, s.c.) 。在注射后2/4/7和24小时测量血浆葡萄糖水平。变体M5和变体M69的结果显示与野生型FGF19 (数据未示出) 类似的葡萄糖降低作用。

[0538] 实施例8

[0539] 本实施例显示了若干变体多肽及其特定特性,包括变体对葡萄糖降低、脂质分布参数和HCC形成的作用。

[0540] 尤其是,表9对比了变体M5 (SEQ ID NO:5) 、M6 (SEQ ID NO:6) 和M50 (SEQ ID NO:50) 产生的数据与具有N-末端Arg (R) 缺失的对应变体多肽 (分别表示为M144、M145和M146) 产生的数据。仅列出了每个变体的某些序列结构域:N-末端结构域、核心和Sheet-8/环-8/Sheet-9区。

[0541] 表9

N-末端结构域		核心	Sheet-8/Loop8/ Sheet-9 区	葡萄糖 降低	体重 降低	HDL 升高	甘油三酯 升高	HCC 形成
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI (SEQ ID NO:99 的 aa 1-20)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:99 的 aa 21-29)	//EEIRPDGYNVY// (SEQ ID NO:99 的 aa 102-112)	+	-	+	+	+
FGF21	HPIPDSPLLQ-FGGQV (SEQ ID NO:100 的 aa 1-20)	RQRYLYTDD (SEQ ID NO:100 的 aa 21-29)	//ELLLEDGYNVY// (SEQ ID NO:100 的 aa 97-107)	+	+	-	-	-
M5	R-HPIPDSPLLQ-FGGQV (SEQ ID NO:5 的 aa 1-17)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:5 的 aa 18-26)	//EEIRPDGYNVY// (SEQ ID NO:5 的 aa 99-109)	+	-	-	-	-
[0542]	M6	R-----DSSPLLQ-FGGQV (SEQ ID NO:6 的 aa 1-14)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:6 的 aa 15-23)	//EEIRPDGYNVY// (SEQ ID NO:6 的 aa 95-105)	+	-	-	-
	M50	R-HPIPDSPLLQ-FGDQV (SEQ ID NO:50 的 aa 1-17)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:50 的 aa 18-26)	//EEIRPDGYNVY// (SEQ ID NO:50 的 aa 99-109)	+	+	-	-
	M144	-HPIPDSPLLQ-FGGQV (SEQ ID NO:5 的 aa 2-17)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:5 的 aa 18-26)	//EEIRPDGYNVY// (SEQ ID NO:5 的 aa 99-109)	+	-	-	-
	M145	-----DSSPLLQ-FGGQV (SEQ ID NO:6 的 aa 2-14)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:6 的 aa 15-23)	//EEIRPDGYNVY// (SEQ ID NO:6 的 aa 95-105)	+	-	-	-
	M146	-HPIPDSPLLQ-FGDQV (SEQ ID NO:50 的 aa 2-17)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:50 的 aa 18-26)	//EEIRPDGYNVY// (SEQ ID NO:50 的 aa 99-109)	+	+	-	-

[0543] 如表9中的数据表明的,缺少N-末端Arg (R) 不显著影响葡萄糖降低、体重减轻、HDL和甘油三酯升高、以及HCC形成。

[0544] 实施例9

[0545] 本实施例显示了具有在FGF19的Loop 8区中的氨基酸置换的若干变体肽,连同该变体对体重、某些代谢参数和HCC形成的作用。

[0546] 表10中的数据与表示为M3、M139、M140、M141和M160的变体多肽相关。M3的氨基酸序列在本文的其他地方展示,而M139、M140、M141和M160的氨基酸序列为如下:

[0547] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M139) (SEQ ID NO:193) ;

[0548] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIREDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M140) (SEQ ID NO:194) ;

[0549] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILCDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M141) (SEQ ID NO:195) ;和

[0550] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRQRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTV
AIKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFL
PMLPMVPEEPEDLRGHLESDFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK (M160) (SEQ ID NO:196) 。

[0551] 对于前述变体中的每一个,仅在表10中列出了以下序列结构域:N-末端结构域、核心和Sheet-8/环-8/Sheet-9区。而组成Loop 8区的特定氨基酸残基在文献中不是普遍认可,FGF19残基127-129在本文中定义为构成所述环-8区。

[0552] 表10

		N-末端结构域		核心		葡萄糖降低	体重降低	HDL升高	甘油三酯升高	HCC形成
FGF19	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI (SEQ ID NO:99 的 aa 1-20)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:99 的 aa 21-29)	//EEIRPDGYNVY// (SEQ ID NO:99 的 aa 102-112)	+	-	+	+	+	+	
FGF21	HPIPDSPLLQ-FGGQV (SEQ ID NO:100 的 aa 1-20)	RQRHLYTDD (SEQ ID NO:100 的 aa 21-29)	//ELLEDGYNVY// (SEQ ID NO:100 的 aa 97-107)	+	+	-	-	-	-	
M3	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI (SEQ ID NO:3 的 aa 1-17)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:3 的 aa 21-29)	//EEILEDGYNVY// (SEQ ID NO:3 的 aa 102-112)	+	+	+	+	+	+/-	
[0553]	M139	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI (SEQ ID NO:193 的 aa 1-20)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:193 的 aa 21-29)	//EEILPDGYNVY// (SEQ ID NO:193 的 aa 102-112)	+	-	+	+	+	
	M140	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI (SEQ ID NO:194 的 aa 1-20)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:194 的 aa 21-29)	//EEIREDGYNVY// (SEQ ID NO:194 的 aa 102-112)	+	+	+	+	+/-	
	M141	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI (SEQ ID NO:195 的 aa 1-20)	RLRHLYTSG (SEQ ID NO:195 的 aa 21-29)	//EEILCDGYNVY// (SEQ ID NO:195 的 aa 102-112)	+	-	+	+	+	
	M160	RPLAFSDAGPHVHYGWGDPI (SEQ ID NO:196 的 aa 1-20)	RQRHLYTSG (SEQ ID NO:196 的 aa 21-29)	//EEILEDGYNVY// (SEQ ID NO:196 的 aa 102-112)	+	+	+	+	-	

[0554] 参见表10, P128E置换看起来对于显著防止HCC形成的必需的,但是通过其自身不足以防止HCC形成。尤其是,防止HCC形成的提高利用在M140中的P128E置换观察到。相反,通过其自身,R127L置换不防止HCC形成(参见M139)。如与M3相比表明的,R127L和P128E置换的组合降低HCC形成但不消除HCC形成。然而,令人惊讶地,R127L和P128E置换的组合连同FGF19核心区域中的G1n (Q) 对Leu (L) 的置换确实显著地防止HCC形成(参见M160)。

[0555] 这些数据表明,FGF19Loop 8区在HCC形成中起作用。所述Loop 8区外部的氨基酸残基(例如,核心区中的置换)可以增强对HCC形成的防止。

[0556] M1 (SEQ ID NO:1)

[0557] RPLAFSDASPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVA
IKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
LPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEAVRSPSFEK

[0558] M2 (SEQ ID NO:2)

[0559] RPLAFSDSSPLVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVA
IKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
LPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEAVRSPSFEK

[0560] M3 (SEQ ID NO:3)

[0561] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVA
IKGVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEILEDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
LPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEAVRSPSFEK

[0562] M5 (SEQ ID NO:5)

[0563] RHIPIDSSPLQFGGQVRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKG
VHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVYRSEKHLRPLVSLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
VPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTLGLEAVRSPSFEK

[0564] M5-R (SEQ ID NO:160)

- [0565] HPIPDSSPLLQFGGQVRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGV
HSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMV
PEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0566] M48 (SEQ ID NO:48)
- [0567] RDSSPLLQFGGQVRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSV
RYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEE
PEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0568] M49 (SEQ ID NO:49)
- [0569] RPLAFSDSSPLLQFGGQVRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIK
GVHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLP
MVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0570] M50 (SEQ ID NO:50)
- [0571] RHPIPDSSPLLQFGDQVRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKG
VHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPM
VPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0572] M51 (SEQ ID NO:51)
- [0573] RHPIPDSSPLLQFGGNVRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKG
VHSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPM
VPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0574] M52 (SEQ ID NO:52)
- [0575] RDSSPLLQWGDPIRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSV
RYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEE
PEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0576] M53 (SEQ ID NO:192)
- [0577] MDSSPLLQWGDPIRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVHSV
RYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEE
PEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0578] M69 (SEQ ID NO:69)
- [0579] RDSSPLVHYGWGDPIRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGVH
SVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMV
EEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0580] M70 (SEQ ID NO:70)
- [0581] MRDSSPLVHYGWGDPIRLRHYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLIEIKAVALRTVAIKGV
HSVRYLCMGADGKMQGLLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMV
PEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLEAVRSPSFEK
- [0582] M71 (SEQ ID NO:71)
- [0583] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTGVTGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVK
TSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHSLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAL
PEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSSQGRSPSYAS

[0584] M72 (SEQ ID NO:72)

[0585] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVK
TSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAP
PEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSPQRSPSYAS

[0586] M73 (SEQ ID NO:73)

[0587] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTTEAHLEIREDTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVK
TSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAL
PEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVQDELQGVGGEGCHMHPENCKTLLTDIDRTHTEKPVWDGITGE

[0588] M75 (SEQ ID NO:75)

[0589] RVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYL
CMGADGKMQGLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHL
LRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK

[0590] M76 (SEQ ID NO:76)

[0591] RGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVAIKGVHSVRYLCMGAD
GKMQGLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPMLPMVPEEPEDLRGHL
ESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK

[0592] FGF19 (SEQ ID NO:99)

[0593] RPLAFSDAGPHVHYGWGDPIRLRHLYTSGPHGLSSCFLRIRADGVVDCARGQSAHSLLEIKAVALRTVA
IKGVHSVRYLCMGADGKMQGLQYSEEDCAFEEEIRPDGYNVRSEKHLRVLSSAKQRQLYKNRGFLPLSHFLPM
LPMVPEEPEDLRGHLESDMFSSPLETDSMDPFGLVTGLEAVRSPSFEK

[0594] 实施例10:

[0595] 本实施例显示,在人患者中施用M70导致7a-羟基-4-胆甾烯-3-酮 (C4) (一种胆汁酸合成的标志物) 的抑制。

[0596] 研究受试者:在研究中招募年龄范围为18–65岁且具有正常体重(体重指数,BMI 20–35)的健康成人。研究方案由澳大利亚的人类研究伦理委员会(the Human Research Ethics Committee)批准,并且从每个受试者获得书面知情同意书。对于纳入研究的每个受试者,必须处于通过从病史、身体检查、12导联ECG、临床实验室发现和在筛选时的生命征没有临床上的显著发现确定良好健康。将具有任何显著代谢、变态反应、皮肤病学、肝、肾、血液学、肺、心血管、GI、神经病学或精神病学疾病的病史或临床表现的受试者从招募中排除。

[0597] 研究设计:所述研究为随机化、双盲、安慰剂对照的设计。患者的初筛在登记前7–30天进行,并且在处理前进行基线评价。每个受试者给予每天单个推注剂量的剂量为3mg/天的M70的皮下注射,持续7天。将血液样品通过留置导管收集到肝素化管中。分析在施用M70或安慰剂后4.5小时或24小时在第1天和第7天提取的血液样品。使用7a-羟基-4-胆甾烯-3-酮 (C4) 的血清水平来监测CYP7A1酶活性(胆汁酸合成)。它们在样品提取后从个体血清样品进行分析,接着进行高压液相色谱(HPLC),如之前所述的(Galman等人(2003)J Lipid Res.2003;44(4):859–66)。

[0598] 结果:图6中提供的数据显示,相比于接受安慰剂的患者,在第1天和第7天,在用药后4.5小时和24小时,C4的血清水平在患者中都被显著抑制。

[0599] 实施例11:

[0600] 本实施例显示在大鼠成肌细胞系中小鼠FGFR4- β -klotho信号传导通过FGF19、M3和M70激活。

[0601] 方法:在用以下各项瞬时转染的L6细胞中进行ELK荧光素酶测定:小鼠FGFR4、 β -klotho、和含有5xUAS荧光素酶和融合至ELK1的GAL4-DNA-结合结构域(DBD)的报告蛋白构建体。在该系统中,荧光素酶活性通过内源性磷酸化胞外信号调节激酶(ERK)调节。在溶解用于荧光素酶活性测量之前,细胞用配体温育6小时。

[0602] 使用基于细胞的受体激活测定来评价在 β -klotho存在下小鼠FGFR4介导配体依赖性的信号传导的能力。为此,将缺乏这些蛋白质的内源性表达的大鼠L6成肌细胞系用编码来自小鼠的FGFR4和 β -klotho的DNA、以及含有基于E1K1依赖性嵌合转录因子的报告蛋白系统的质粒转染。

[0603] 在转染后,在荧光素底物存在下在全细胞溶解产物中分析配体依赖性荧光素酶表达的浓度响应。

[0604] 结果:发现L6细胞中的FGFR4和 β -klotho的共表达增强通过M3,M70和FGF19的分子内信号传导途径的激活(分别地,EC₅₀=20、38和53pM(参见表11和图7)。

[0605] 表11:L6细胞中的小鼠FGFR4/ β -klotho复合物的共表达增强通过FGF19、M3和M70的分子内信号传导途径的激活。

配体	FGFR4/ β klotho	
	EC ₅₀ (pM)	E _{max} (倍数增强)
FGF19	52.5 ± 0.01	1.82 ± 0.09
M3	19.8 ± 0.04	1.68 ± 0.04
M70	38.3 ± 0.12	1.85 ± 0.14

[0607] EC₅₀=半最大有效浓度;E_{max}=最大效力。数据表示为平均值±SD

[0608] 这些数据表明,FGFR4- β -klotho共受体和同源配体之间的三元复合物的形成对于分子内信号传导的有效激活很重要。

[0609] 序列表

[0610] 本说明书与序列表的计算机可读形式(CRF)拷贝一起提交。该CRF标题为13370-007_SEQLIST.txt,其在2013年12月26日生成,大小为241,577字节,与序列表的纸件复本相同并且通过引用以其整体结合于本文中。

CN_131254-146007_Sequence listing.txt
序列表

<110> 恩格姆生物制药公司 (NGM Biopharmaceuticals, Inc.)
 雷·灵 (LING, Lei)
 建·罗 (LUO, Jian)
 <120> 用于调节胆汁酸体内稳态和胆汁酸疾病和病症的治疗方法
 <130> 13370-007-228
 <140> PCT/US2013/077782
 <141> 2013-12-26
 <150> 61/746,499
 <151> 2012-12-27
 <150> 61/779,604
 <151> 2013-03-13
 <150> 61/887,129
 <151> 2013-10-04
 <160> 196
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 1

[0001] Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Ser Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

 Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

 Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

 Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

 Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

 Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

 Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

 Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

 Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 2
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 2

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro Leu Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

[0002] Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 3
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 3

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

[0003]

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 4

<211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 4

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Ala Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

[0004]

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

<210> 5
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 5

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

[0005] Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 6
<211> 187
<212> PRT
<213> 智人

<400> 6

Arg Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Leu Arg
1 5 10 15

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

Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His
35 40 45

Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys
50 55 60

Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met
65 70 75 80

Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu
85 90 95

Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu
100 105 110

Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg
115 120 125

Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro
130 135 140

Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser
145 150 155 160

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly
165 170 175

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

[0006] <210> 7
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 7

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
1 5 10 15

Gln Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln

115

120

125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 8
<211> 191
<212> PRT
<213> 智人

<400> 8

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Trp Gly Asp Pro
1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

[0007] Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 9
<211> 193
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Trp Gly
1 5 10 15

Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu
20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
[0008] 85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
180 185 190

Lys

<210> 10
<211> 193
<212> PRT

<213> 智人

<400> 10

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly
1 5 10 15

Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu
20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
115 120 125

[0009]

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
180 185 190

Lys

<210> 11

<211> 192

<212> PRT

<213> 智人

<400> 11

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser

20

25

30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

[0010]

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 12
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 12

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

 Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

 Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

 Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

 Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

 Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

 Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

 Glu Lys

[0011] <210> 13
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 13

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
 1 5 10 15

 Gln Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

 Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

 Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

 Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

 Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

 Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 14
<211> 191
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Gly Gln
1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
[0012] 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 15
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 15

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Gly
1 5 10 15

Gln Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

[0013]

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 16
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

[0014]

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 17

<211> 192

<212> PRT

<213> 智人

<400> 17

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val Gly Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

[0015] Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 18
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Tyr Gly Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 19

<211> 192

<212> PRT

<213> 智人

<400> 19

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Val Tyr Gly Trp Gly Asp
1 5 10 15

[0016]

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu

145

150

155

160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 20
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 20

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Val His Gly Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

[0017] Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 21
 <211> 192

<212> PRT
 <213> 智人
 <400> 21

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Val His Tyr Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

[0018] Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 22
 <211> 193
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 22

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Gly Trp Gly
 1 5 10 15

Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu
 20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
 35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
 50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
 65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
 85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
 100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
 115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
 130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
 145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
 165 170 175

[0019] Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
 180 185 190

Lys

<210> 23
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 23

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His His Gly Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly

65

70

75

80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 24
 <211> 192
 <212> PRT
 [0020] <213> 智人

<400> 24

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His His Tyr Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 25

<211> 192

<212> PRT

<213> 智人

<400> 25

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val Tyr Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
[0021] 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 26
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 26

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro Leu Val His Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

[0022]

Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 27
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 27

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro His Val His Trp Gly Asp

1	5	10	15
Pro	Ile Arg	Leu Arg His	Leu Tyr Thr Ser Gly
	20	25	Pro His Gly Leu Ser
Ser Cys	Phe Leu Arg	Ile Arg Ala Asp	Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
	35	40	45
Gly Gln Ser Ala His Ser	Leu Leu Glu	Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg	
50	55	60	
Thr Val Ala Ile Lys	Gly Val His Ser Val	Arg Tyr Leu Cys Met	Gly
65	70	75	80
Ala Asp Gly Lys Met Gln	Gly Leu Leu Gln	Tyr Ser Glu Glu Asp Cys	
85	90	95	
Ala Phe Glu Glu Ile Arg	Pro Asp Gly Tyr Asn Val	Tyr Arg Ser	
100	105	110	
Glu Lys His Arg Leu Pro Val	Ser Leu Ser Ser Ala Lys	Gln Arg Gln	
115	120	125	
Leu Tyr Lys Asn Arg Gly	Phe Leu Pro Leu Ser	His Phe Leu Pro Met	
130	135	140	
Leu Pro Met Val Pro Glu	Glu Pro Glu Asp	Leu Arg Gly His Leu Glu	
145	150	155	160
Ser Asp Met Phe Ser Ser	Pro Leu Glu Thr Asp Ser	Met Asp Pro Phe	
165	170	175	
Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu	Ala Val Arg Ser Pro Ser	Phe Glu Lys	
180	185	190	

<210> 28
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 28

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val Trp Gly Asp Pro

Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

[0024] <210> 29
<211> 193
<212> PRT
<213> 智人

<400> 29
Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Trp Gly
1 5 10 15

Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu
20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
180 185 190

Lys

<210> 30
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

[0025] Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Ala Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 31
<211> 191
<212> PRT
<213> 智人

<400> 31

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Ala Gln
1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

[0026]

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys

180

185

190

<210> 32
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 32

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Asp Gln
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

[0027]

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 33
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 33

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Pro Gln
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

[0028] Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 34
<211> 191
<212> PRT
<213> 智人

<400> 34

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Ala
1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 35

<211> 191

<212> PRT

<213> 智人

<400> 35

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Glu
1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu

115

120

125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 36

<211> 191

<212> PRT

<213> 智人

<400> 36

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Asn
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

[0030] Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 37
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 37

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
 1 5 10 15

Ala Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 [0031] 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 38
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 38

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
 1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

[0032] Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 39
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 39

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr

50

55

60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

[0033]

<210> 40
 <211> 193
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 40

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Trp Gly
 1 5 10 15

Gln Pro Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu
 20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
 35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
 50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
 65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
 85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
 100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
180 185 190

Lys

<210> 41
<211> 182
<212> PRT
<213> 智人

<400> 41

[0034] Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
 145 150 155 160

Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
 165 170 175

Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
 180

<210> 42
 <211> 178
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 42

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
 1 5 10 15

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys
 20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
 35 40 45

[0035] Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
 50 55 60

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
 65 70 75 80

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe
 85 90 95

Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
 100 105 110

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
 115 120 125

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
 130 135 140

Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser
 145 150 155 160

Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr
 165 170 175

Ala Ser

<210> 43
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 43

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Gly
 1 5 10 15

Asp Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

[0036]
 Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 44
 <211> 185
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 44

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln
 20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala
 35 40 45

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

Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln
 65 70 75 80

Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala
 85 90 95

Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln
 100 105 110

Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro
 115 120 125

His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro
 130 135 140

Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln
 145 150 155 160

[0037] Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser
 165 170 175

Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
 180 185

<210> 45
 <211> 193
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 45

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
 1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
 20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
 35 40 45

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

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
 65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
130 135 140

Ala Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
180 185 190

Lys

[0038] <210> 46
<211> 232
<212> PRT
<213> 智人
<400> 46

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln
20 25 30

Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Ala
35 40 45

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

Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln
65 70 75 80

Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala
85 90 95

Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln
100 105 110

Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro
 115 120 125

His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro
 130 135 140

Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln
 145 150 155 160

Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser
 165 170 175

Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Pro Met Val Pro Glu Glu Pro
 180 185 190

Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu
 195 200 205

Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala
 210 215 220

Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 225 230

<210> 47
 <211> 190
 <212> PRT
 [0039] <213> 智人
 <400> 47

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Trp Gly Asp Pro Ile
 1 5 10 15

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys
 20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
 35 40 45

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
 50 55 60

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
 65 70 75 80

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe
 85 90 95

Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
 100 105 110

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr

115

120

125

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
 130 135 140

Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp
 145 150 155 160

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu
 165 170 175

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 48

<211> 187

<212> PRT

<213> 智人

<400> 48

Arg Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Leu Arg
 1 5 10 15

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

[0040] Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His
 35 40 45

Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys
 50 55 60

Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met
 65 70 75 80

Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu
 85 90 95

Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu
 100 105 110

Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg
 115 120 125

Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro
 130 135 140

Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser
 145 150 155 160

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly
 165 170 175

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 49
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 49

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
1 5 10 15

Gln Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
[0041] 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 50
<211> 191
<212> PRT
<213> 智人

<400> 50

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Asp Gln
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

[0042]

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 51
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 51

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Asn
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr

50

55

60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

[0043]

<210> 52
<211> 187
<212> PRT
<213> 智人

<400> 52

Arg Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg
1 5 10 15

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

Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His
35 40 45

Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys
50 55 60

Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met
65 70 75 80

Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu
85 90 95

Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu
100 105 110

Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg
115 120 125

Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro
130 135 140

Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser
145 150 155 160

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly
165 170 175

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 53
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 53

Met Asp Ser Ser Pro Leu Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg
1 5 10 15

Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe
[0044] 20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser
35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala
50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly
65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu
85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His
100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys
115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met
130 135 140

Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met
145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val
165 170 175

Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 54
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 54

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

[0045]

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 55
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 55

Arg	Pro	Leu	Ala	Phe	Ser	Asp	Ala	Gly	Pro	His	Tyr	Gly	Trp	Gly	Asp
1				5				10					15		

Pro	Ile	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	His	Gly	Leu	Ser
	20				25						30				

Ser	Cys	Phe	Leu	Arg	Ile	Arg	Ala	Asp	Gly	Val	Val	Asp	Cys	Ala	Arg
	35				40					45					

Gly	Gln	Ser	Ala	His	Ser	Leu	Leu	Glu	Ile	Lys	Ala	Val	Ala	Leu	Arg
	50				55				60						

Thr	Val	Ala	Ile	Lys	Gly	Val	His	Ser	Val	Arg	Tyr	Leu	Cys	Met	Gly
	65			70					75			80			

Ala	Asp	Gly	Lys	Met	Gln	Gly	Leu	Leu	Gln	Tyr	Ser	Glu	Glu	Asp	Cys
	85				90				95						

Ala	Phe	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Pro	Asp	Gly	Tyr	Asn	Val	Tyr	Arg	Ser
	100				105						110				

Glu	Lys	His	Arg	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Gln
	115				120					125					

[0046]

Leu	Tyr	Lys	Asn	Arg	Gly	Phe	Leu	Pro	Leu	Ser	His	Phe	Leu	Pro	Met
	130			135					140						

Leu	Pro	Met	Val	Pro	Glu	Glu	Pro	Glu	Asp	Leu	Arg	Gly	His	Leu	Glu
	145				150				155			160			

Ser	Asp	Met	Phe	Ser	Ser	Pro	Leu	Glu	Thr	Asp	Ser	Met	Asp	Pro	Phe
	165				170					175					

Gly	Leu	Val	Thr	Gly	Leu	Glu	Ala	Val	Arg	Ser	Pro	Ser	Phe	Glu	Lys
	180				185				190						

<210> 56

<211> 192

<212> PRT

<213> 智人

<400> 56

Arg	Pro	Leu	Ala	Phe	Ser	Asp	Ala	Gly	Pro	Val	Tyr	Gly	Trp	Gly	Asp
1				5				10					15		

Pro	Ile	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	His	Gly	Leu	Ser
	20				25					30					

Ser	Cys	Phe	Leu	Arg	Ile	Arg	Ala	Asp	Gly	Val	Val	Asp	Cys	Ala	Arg
	35				40					45					

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

[0047] Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 57
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 57

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Val His Gly Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 58
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 58

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Val His Tyr Trp Gly Asp
[0048] 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 59
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His His Gly Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

[0049]

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 60

<211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 60

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His His Tyr Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

[0050] Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 61
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 61

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val Gly Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

[0051] Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 62
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人
<400> 62

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val Tyr Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 63
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

[0052] <400> 63

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met

130

135

140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 64
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 64

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro Leu Val His Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

[0053] Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 65
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 65

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro His Val His Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

[0054] Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 66
 <211> 192
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 66

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Leu Gln Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

[0055]

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 67
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 67

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val Trp Gly Asp Pro
 1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala

	65	70	75	80												
	Asp	Gly	Lys	Met	Gln	Gly	Leu	Leu	Gln	Tyr	Ser	Glu	Glu	Asp	Cys	Ala
					85				90					95		
	Phe	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Pro	Asp	Gly	Tyr	Asn	Val	Tyr	Arg	Ser	Glu
		100						105					110			
	Lys	His	Arg	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Gln	Leu
			115					120				125				
	Tyr	Lys	Asn	Arg	Gly	Phe	Leu	Pro	Leu	Ser	His	Phe	Leu	Pro	Met	Leu
			130				135				140					
	Pro	Met	Val	Pro	Glu	Glu	Pro	Glu	Asp	Leu	Arg	Gly	His	Leu	Glu	Ser
			145			150				155			160			
	Asp	Met	Phe	Ser	Ser	Pro	Leu	Glu	Thr	Asp	Ser	Met	Asp	Pro	Phe	Gly
				165					170				175			
	Leu	Val	Thr	Gly	Leu	Glu	Ala	Val	Arg	Ser	Pro	Ser	Phe	Glu	Lys	
			180					185				190				
[0056]	<210>	68														
	<211>	193														
	<212>	PRT														
	<213>	智人														
	<400>	68														
	Arg	Pro	Leu	Ala	Phe	Ser	Asp	Ala	Gly	Pro	His	Val	His	Tyr	Trp	Gly
					5					10				15		
	Asp	Pro	Ile	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	His	Gly	Leu
					20				25				30			
	Ser	Ser	Cys	Phe	Leu	Arg	Ile	Arg	Ala	Asp	Gly	Val	Val	Asp	Cys	Ala
						35		40					45			
	Arg	Gly	Gln	Ser	Ala	His	Ser	Leu	Leu	Glu	Ile	Lys	Ala	Val	Ala	Leu
						50		55				60				
	Arg	Thr	Val	Ala	Ile	Lys	Gly	Val	His	Ser	Val	Arg	Tyr	Leu	Cys	Met
						65		70			75			80		
	Gly	Ala	Asp	Gly	Lys	Met	Gln	Gly	Leu	Leu	Gln	Tyr	Ser	Glu	Glu	Asp
					85				90			95				
	Cys	Ala	Phe	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Pro	Asp	Gly	Tyr	Asn	Val	Tyr	Arg
					100			105				110				
	Ser	Glu	Lys	His	Arg	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg
					115			120				125				

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
180 185 190

Lys

<210> 69
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 69

Arg Asp Ser Ser Pro Leu Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg
1 5 10 15

Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe
[0057] 20 25 30

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser
35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala
50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly
65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu
85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His
100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys
115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met
130 135 140

Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met
145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val
165 170 175

Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 70
<211> 190
<212> PRT
<213> 智人

<400> 70

Met Arg Asp Ser Ser Pro Leu Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile
1 5 10 15

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys
20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
35 40 45

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
50 55 60

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
65 70 75 80

[0058]

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe
85 90 95

Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
100 105 110

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
115 120 125

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
130 135 140

Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp
145 150 155 160

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu
165 170 175

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 71
<211> 181
<212> PRT
<213> 智人

<400> 71

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
 1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
 20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
 35 40 45

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

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
 65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
 85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
 100 105 110

Ser Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
 115 120 125

[0059]

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
 130 135 140

Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
 145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
 165 170 175

Pro Ser Tyr Ala Ser
 180

<210> 72

<211> 181

<212> PRT

<213> 智人

<400> 72

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
 1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
 20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
 35 40 45

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

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
130 135 140

Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
165 170 175

[0060] Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 73
<211> 212
<212> PRT
<213> 智人

<400> 73

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
35 40 45

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

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
130 135 140

Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Val Gln Asp Glu Leu Gln Gly
165 170 175

Val Gly Gly Glu Gly Cys His Met His Pro Glu Asn Cys Lys Thr Leu
180 185 190

Leu Thr Asp Ile Asp Arg Thr His Thr Glu Lys Pro Val Trp Asp Gly
195 200 205

Ile Thr Gly Glu
210

[0061] <210> 74
<211> 189
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74

Arg Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg
1 5 10 15

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

Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser
35 40 45

Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala
50 55 60

Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly
65 70 75 80

Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu
85 90 95

Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His
100 105 110

Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys
115 120 125

Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met
130 135 140

Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met
145 150 155 160

Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val
165 170 175

Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 75
<211> 184
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75

Arg Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr
1 5 10 15

Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala
20 25 30

[0062]

Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu
35 40 45

Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His
50 55 60

Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu
65 70 75 80

Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro
85 90 95

Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser
100 105 110

Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu
115 120 125

Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro
130 135 140

Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu
145 150 155 160

Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala

165

170

175

Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180

<210> 76
<211> 179
<212> PRT
<213> 智人

<400> 76

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

Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp
20 25 30

Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val
35 40 45

Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu
50 55 60

Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu
65 70 75 80

[0063] Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val
85 90 95

Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys
100 105 110

Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe
115 120 125

Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly
130 135 140

His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met
145 150 155 160

Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser
165 170 175

Phe Glu Lys

<210> 77
<211> 175
<212> PRT
<213> 智人

<400> 77

Arg Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
1 5 10 15

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
20 25 30

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
35 40 45

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
50 55 60

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
65 70 75 80

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
85 90 95

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
100 105 110

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
115 120 125

[0064] Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
130 135 140

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
145 150 155 160

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
165 170 175

<210> 78
<211> 188
<212> PRT
<213> 智人

<400> 78

Arg Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu
1 5 10 15

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

Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala
35 40 45

His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile
50 55 60

Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys
 65 70 75 80

Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu
 85 90 95

Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg
 100 105 110

Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn
 115 120 125

Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val
 130 135 140

Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe
 145 150 155 160

Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr
 165 170 175

Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185

[0065] <210> 79
 <211> 187
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 79

Arg Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg
 1 5 10 15

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

Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His
 35 40 45

Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys
 50 55 60

Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met
 65 70 75 80

Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu
 85 90 95

Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu
 100 105 110

Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg

115

120

125

Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro
 130 135 140

Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser
 145 150 155 160

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly
 165 170 175

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185

<210> 80

<211> 186

<212> PRT

<213> 智人

<400> 80

Arg Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His
 1 5 10 15

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile
 20 25 30

[0066]

Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser
 35 40 45

Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly
 50 55 60

Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln
 65 70 75 80

Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile
 85 90 95

Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro
 100 105 110

Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly
 115 120 125

Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu
 130 135 140

Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser
 145 150 155 160

Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu
 165 170 175

Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 81
<211> 185
<212> PRT
<213> 智人

<400> 81

Arg His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu
1 5 10 15

Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg
20 25 30

Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu
35 40 45

Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val
50 55 60

His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly
65 70 75 80

[0067] Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg
85 90 95

Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val
100 105 110

Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe
115 120 125

Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu
130 135 140

Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro
145 150 155 160

Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu
165 170 175

Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 82
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 82

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Ala Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

[0068] Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

<210> 83
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 83

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Ala Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys

35

40

45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

[0069]

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

<210> 84
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 84

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Ala His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

 Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

 Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

 Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

 Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

 Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

 Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

 Glu Lys

[0070] <210> 85
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 85

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Ala
 1 5 10 15

 Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

 Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

 Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

 Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

 Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

 Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 86
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 86

[0071] Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Ala Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 87
<211> 167
<212> PRT
<213> 智人

<400> 87

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Ala Ile Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu
20 25 30

Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser
35 40 45

[0072]

Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu
50 55 60

Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp
65 70 75 80

Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu
85 90 95

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro
100 105 110

Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu
115 120 125

Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu
130 135 140

Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val
145 150 155 160

Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
165

<210> 88

<211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 88

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro Ala Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

[0073]

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ala His Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

<210> 89
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 89

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro Ala Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser Ala Phe Leu
130 135 140

[0074] Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 90
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 90

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Ala Gln
115 120 125

Ala Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

[0075]

Glu Lys

<210> 91
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 91

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu

85

90

95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Ala Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ala His Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

[0076] <210> 92
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 92

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Ala Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser Ala Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 93
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 93

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
[0077] 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Ala Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ala His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 94
<211> 194
<212> PRT
<213> 智人

<400> 94

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
[0078] 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ala Ala Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 95
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 95

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

[0079]

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Ala Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser Ala Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

<210> 96
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 96

Arg	Pro	Leu	Ala	Phe	Ser	Asp	Ala	Gly	Pro	His	Val	His	Tyr	Gly	Trp
1				5				10					15		

Gly	Asp	Pro	Ile	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	His	Gly
			20				25					30			

Leu	Ser	Ser	Cys	Phe	Leu	Arg	Ile	Arg	Ala	Asp	Gly	Val	Val	Asp	Cys
			35				40				45				

Ala	Arg	Gly	Gln	Ser	Ala	His	Ser	Leu	Leu	Glu	Ile	Lys	Ala	Val	Ala
	50					55					60				

Leu	Arg	Thr	Val	Ala	Ile	Lys	Gly	Val	His	Ser	Val	Arg	Tyr	Leu	Cys
			65			70				75			80		

Met	Gly	Ala	Asp	Gly	Lys	Met	Gln	Gly	Leu	Leu	Gln	Tyr	Ser	Glu	Glu
			85				90					95			

Asp	Cys	Ala	Phe	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Pro	Asp	Gly	Tyr	Asn	Val	Tyr
			100				105					110			

Arg	Ser	Glu	Lys	His	Arg	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Ser	Ser	Ala	Ala	Gln
			115			120						125			

[0080]

Ala	Gln	Leu	Tyr	Lys	Asn	Arg	Gly	Phe	Leu	Pro	Leu	Ala	His	Phe	Leu
			130			135				140					

Pro	Met	Leu	Pro	Met	Val	Pro	Glu	Glu	Pro	Glu	Asp	Leu	Arg	Gly	His
	145				150				155			160			

Leu	Glu	Ser	Asp	Met	Phe	Ser	Ser	Pro	Leu	Glu	Thr	Asp	Ser	Met	Asp
			165					170				175			

Pro	Phe	Gly	Leu	Val	Thr	Gly	Leu	Glu	Ala	Val	Arg	Ser	Pro	Ser	Phe
			180			185					190				

Glu Lys

<210> 97

<211> 194

<212> PRT

<213> 智人

<400> 97

Arg	Pro	Leu	Ala	Phe	Ser	Asp	Ala	Gly	Pro	His	Val	His	Tyr	Gly	Trp
1				5				10					15		

Gly	Asp	Pro	Ile	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	His	Gly
			20				25					30			

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Ala Gln
 115 120 125

Ala Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser Ala Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

[0081] Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

<210> 98
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 98

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80
 Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95
 Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110
 Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Ala Gln
 115 120 125
 Ala Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ala Ala Phe Leu
 130 135 140
 Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160
 Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175
 Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190
 Glu Lys

[0082]

<210> 99
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 99
 Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15
 Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30
 Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45
 Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60
 Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80
 Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95
 Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr

100

105

110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
 165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
 180 185 190

Glu Lys

<210> 100
 <211> 181
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 100

[0083] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
 1 5 10 15

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
 20 25 30

Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
 35 40 45

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

Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
 65 70 75 80

Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
 85 90 95

Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
 100 105 110

Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
 115 120 125

Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
 130 135 140

Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
165 170 175

Pro Ser Tyr Ala Ser
180

<210> 101

<211> 4

<212> PRT

<213> 智人

<400> 101

Val His Tyr Gly
1

<210> 102

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 102

Asp Ala Ser Pro His Val His Tyr Gly
1 5

[0084]

<210> 103

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人

<400> 103

Asp Ser Ser Pro Leu Val His Tyr Gly
1 5

<210> 104

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 104

Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
1 5

<210> 105

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人

<400> 105

Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
1 5 10

<210> 106
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 106

Arg His Pro Ile Pro
1 5

<210> 107
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 107

His Pro Ile Pro
1

<210> 108
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 108

Arg Pro Leu Ala Phe
1 5

[0085] <210> 109
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 109

Pro Leu Ala Phe
1

<210> 110
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 110

Met Asp Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 111
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

<400> 111

Met Ser Asp Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 112

<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 112

Ser Asp Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 113
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 113

Met Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 114
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 114

Ser Ser Pro Leu
1

[0086] <210> 115
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 115

Arg Asp Ser Ser
1

<210> 116
<211> 4
<212> PRT
<213> 智人

<400> 116

Met Asp Ser Ser
1

<210> 117
<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 117

Met Arg Asp Ser Ser
1 5

<210> 118
<211> 5
<212> PRT

<213> 智人

<400> 118

Met Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 119

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人

<400> 119

Met Asp Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 120

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人

<400> 120

Met Ser Asp Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 121

<211> 5

<212> PRT

[0087] <213> 智人

<400> 121

Asp Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 122

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人

<400> 122

Asp Ala Ser Pro His
1 5

<210> 123

<211> 4

<212> PRT

<213> 智人

<400> 123

Arg Asp Ser Ser
1

<210> 124

<211> 4

<212> PRT

<213> 智人

<400> 124

Met Asp Ser Ser
1

<210> 125

<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 125

Met Arg Asp Ser Ser
1 5

<210> 126

<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 126

Met Asp Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 127

<211> 7
<212> PRT
<213> 智人

[0088] <400> 127

Met Ser Asp Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 128

<211> 5
<212> PRT
<213> 智人

<400> 128

Met Ser Ser Pro Leu
1 5

<210> 129

<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 人工序列的描述：接头序列

<400> 129

Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 130

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 接头序列

<400> 130

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 131
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 接头序列

<400> 131

Gly Gly Ser Gly
1

<210> 132
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 接头序列

<400> 132

[0089] Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 133
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 接头序列

<400> 133

Gly Ser Gly Ser Gly
1 5

<210> 134
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 人工序列的描述: 接头序列

<400> 134

Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

<210> 135
<211> 5

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 接头序列
 <400> 135
 Gly Ser Ser Ser Gly
 1 5

<210> 136
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 正向引物
 <400> 136
 ccgactagtc accatgcgga gcgggtgtgt gg 32

<210> 137
 <211> 41
 <212> DNA
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 人工序列的描述: 反向引物
 <400> 137
 ataagaatgc ggccgcttac ttctcaaagc tgggactcct c 41
 [0090]

<210> 138
 <211> 186
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 138
 Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Leu Arg His
 1 5 10 15

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile
 20 25 30

Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser
 35 40 45

Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly
 50 55 60

Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln
 65 70 75 80

Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile
 85 90 95

Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro

100

105

110

Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly
 115 120 125

Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu
 130 135 140

Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser
 145 150 155 160

Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu
 165 170 175

Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185

<210> 139

<211> 194

<212> PRT

<213> 智人

<400> 139

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Ser Pro His Val His Tyr Gly Trp
 1 5 10 15

[0091] Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
 20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
 35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
 65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
 85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
 115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
 130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
 145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 140

<211> 194

<212> PRT

<213> 智人

<400> 140

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro Leu Val His Tyr Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
[0092] 50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 141
<211> 188
<212> PRT
<213> 智人

<400> 141

Asp Ser Ser Pro Leu Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu
1 5 10 15

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

Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala
35 40 45

His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile
50 55 60

Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys
65 70 75 80

Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu
85 90 95

[0093]

Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg
100 105 110

Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn
115 120 125

Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val
130 135 140

Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe
145 150 155 160

Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr
165 170 175

Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 142
<211> 193
<212> PRT
<213> 智人

<400> 142

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Trp Gly

1

5

10

15

Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu
 20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
 35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
 50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
 65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
 85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
 100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
 115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
 130 135 140

[0094]

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
 145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
 165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
 180 185 190

Lys

<210> 143

<211> 191

<212> PRT

<213> 智人

<400> 143

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Trp Gly Asp Pro
 1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

[0095] Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 144

<211> 194

<212> PRT

<213> 智人

<400> 144

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Trp
1 5 10 15

Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly
20 25 30

Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys
35 40 45

Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala
50 55 60

Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys
65 70 75 80

Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95

Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110

Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125

Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140

Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160

Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175

Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190

Glu Lys

<210> 145

<211> 193

<212> PRT

<213> 智人

[0096]

<400> 145

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly
1 5 10 15

Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu
20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
145 150 155 160

Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
180 185 190

Lys

<210> 146
<211> 192
<212> PRT
<213> 智人

<400> 146

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
1 5 10 15

Gln Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

[0097]

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe

165

170

175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 147

<211> 191

<212> PRT

<213> 智人

<400> 147

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Gly Gln
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

[0098] Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 148

<211> 187

<212> PRT

<213> 智人

<400> 148

Arg Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Leu Arg
1 5 10 15

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

Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His
35 40 45

Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys
50 55 60

Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met
65 70 75 80

Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu
85 90 95

Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu
100 105 110

Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg
115 120 125

[0099] Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro
130 135 140

Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser
145 150 155 160

Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly
165 170 175

Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 149

<211> 192

<212> PRT

<213> 智人

<400> 149

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
1 5 10 15

Gln Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

[0100]

<210> 150
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 150

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Ala Gln
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu

100

105

110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 151

<211> 191

<212> PRT

<213> 智人

<400> 151

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Asp Gln
 1 5 10 15

[0101] Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 152
<211> 191
<212> PRT
<213> 智人

<400> 152

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Pro Gln
1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80
[0102]

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 153
<211> 191
<212> PRT

<213> 智人

<400> 153

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Ala
1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

[0103]

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 154

<211> 191

<212> PRT

<213> 智人

<400> 154

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Glu
1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly

35

40

45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

[0104]

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 155
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 155

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Asn
 1 5 10 15

Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 156

<211> 191

<212> PRT

<213> 智人

<400> 156

[0105] Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
1 5 10 15

Ala Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
100 105 110

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
130 135 140

Pro	Met	Val	Pro	Glu	Glu	Pro	Glu	Asp	Leu	Arg	Gly	His	Leu	Glu	Ser
145					150					155				160	
Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly															
165 170 175															
Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys															
180 185 190															
<210> 157															
<211> 191															
<212> PRT															
<213> 智人															
<400> 157															
Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln															
1 5 10 15															
Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser															
20 25 30															
Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly															
35 40 45															
Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr															
50 55 60															
[0106] Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala															
65 70 75 80															
Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala															
85 90 95															
Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu															
100 105 110															
Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu															
115 120 125															
Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu															
130 135 140															
Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser															
145 150 155 160															
Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly															
165 170 175															
Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys															
180 185 190															

<210> 158
 <211> 191
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 158

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
 1 5 10 15

Thr Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser
 20 25 30

Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly
 35 40 45

Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr
 50 55 60

Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala
 65 70 75 80

Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala
 85 90 95

Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu
 100 105 110

[0107]

Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu
 115 120 125

Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu
 130 135 140

Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser
 145 150 155 160

Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly
 165 170 175

Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 159
 <211> 193
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 159

Arg His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Trp Gly
 1 5 10 15

Gln Pro Val Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu
 20 25 30

Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala
 35 40 45

Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu
 50 55 60

Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met
 65 70 75 80

Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp
 85 90 95

Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg
 100 105 110

Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg
 115 120 125

Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro
 130 135 140

Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu
 145 150 155 160

[0108] Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro
 165 170 175

Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu
 180 185 190

Lys

<210> 160
 <211> 190
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 160

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
 1 5 10 15

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys
 20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
 35 40 45

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
 50 55 60

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
65 70 75 80

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe
85 90 95

Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
100 105 110

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
115 120 125

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
130 135 140

Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp
145 150 155 160

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu
165 170 175

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

[0109] <210> 161
<211> 186
<212> PRT
<213> 智人

<400> 161
Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Leu Arg His
1 5 10 15

Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile
20 25 30

Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser
35 40 45

Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly
50 55 60

Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln
65 70 75 80

Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile
85 90 95

Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro
100 105 110

Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly
115 120 125

Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu
130 135 140

Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser
145 150 155 160

Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu
165 170 175

Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185

<210> 162
<211> 190
<212> PRT
<213> 智人

<400> 162

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Trp Gly Asp Pro Ile
1 5 10 15

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys
20 25 30

[0110]

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
35 40 45

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
50 55 60

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
65 70 75 80

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe
85 90 95

Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
100 105 110

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
115 120 125

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
130 135 140

Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp
145 150 155 160

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu

165

170

175

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 163

<211> 192

<212> PRT

<213> 智人

<400> 163

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Trp Gly Asp
 1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
 20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
 35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
 50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
 65 70 75 80

[0111] Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
 85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
 100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
 115 120 125

Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
 130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
 145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
 165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

<210> 164

<211> 192

<212> PRT

<213> 智人

<400> 164

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp
1 5 10 15

Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser
20 25 30

Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg
35 40 45

Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg
50 55 60

Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly
65 70 75 80

Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys
85 90 95

Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser
100 105 110

Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln
115 120 125

[0112] Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met
130 135 140

Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu
145 150 155 160

Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe
165 170 175

Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180 185 190

<210> 165

<211> 190

<212> PRT

<213> 智人

<400> 165

His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro His Val His Tyr Gly Gly Gln Val
1 5 10 15

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys
20 25 30

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
35 40 45

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
 50 55 60

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
 65 70 75 80

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe
 85 90 95

Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
 100 105 110

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
 115 120 125

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
 130 135 140

Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp
 145 150 155 160

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu
 165 170 175

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185 190

[0113]

<210> 166
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 166

Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu
 1 5 10 15

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

Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala
 35 40 45

His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile
 50 55 60

Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys
 65 70 75 80

Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu
 85 90 95

Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg

100

105

110

Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn
 115 120 125

Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val
 130 135 140

Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe
 145 150 155 160

Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr
 165 170 175

Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
 180 185

<210> 167
 <211> 183
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 167

Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr
 1 5 10 15

[0114] Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp
 20 25 30

Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu
 35 40 45

Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser
 50 55 60

Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu
 65 70 75 80

Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp
 85 90 95

Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu
 100 105 110

Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro
 115 120 125

Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu
 130 135 140

Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu
 145 150 155 160

Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val
165 170 175

Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
180

<210> 168
<211> 174
<212> PRT
<213> 智人

<400> 168

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys
1 5 10 15

Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln
20 25 30

Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val
35 40 45

Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp
50 55 60

Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe
65 70 75 80

[0115] Glu Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys
85 90 95

His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr
100 105 110

Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro
115 120 125

Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp
130 135 140

Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu
145 150 155 160

Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys
165 170

<210> 169
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 169
Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly
1 5 10

<210> 170
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 170
Trp Gly Asp Pro Ile
1 5

<210> 171
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 171
Trp Gly Pro Ile
1

[0116] <210> 172
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 172
Trp Gly Asp Pro Val
1 5

<210> 173
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 173
Trp Gly Asp Ile
1

<210> 174
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 174
Gly Asp Pro Ile

1

<210> 175
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 175
Trp Gly Gln Pro Ile
1 5

<210> 176
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 176
Trp Gly Ala Pro Ile
1 5

<210> 177
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

[0117]

<220>
<223> 合成肽

<400> 177
Ala Gly Asp Pro Ile
1 5

<210> 178
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 178
Trp Ala Asp Pro Ile
1 5

<210> 179
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 179
Trp Gly Asp Ala Ile
1 5

<210> 180
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 180
Trp Gly Asp Pro Ala
1 5

<210> 181
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 181
Trp Asp Pro Ile
1

<210> 182
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

[0118] <400> 182
Trp Gly Asp Ile
1

<210> 183
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 183
Trp Gly Asp Pro
1

<210> 184
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成肽

<400> 184
Phe Gly Asp Pro Ile
1 5

<210> 185
<211> 9
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 185

Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly
1 5

<210> 186

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 核心序列

<400> 186

Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp
1 5

<210> 187

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 187

[0119] Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp Gly Asp Pro Ile
1 5 10

<210> 188

<211> 165

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> FGF19 C-端序列

<400> 188

Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val
1 5 10 15
Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys
20 25 30
Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg
35 40 45
Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr
50 55 60
Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr
65 70 75 80
Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser
85 90 95
Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser
100 105 110
His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu
115 120 125
Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp
130 135 140
Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser
145 150 155 160
Pro Ser Phe Glu Lys
165

<210> 189
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 接头序列

<400> 189
 Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5

<210> 190
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> FGF19的折叠-8/环-8/折叠-9区域

<400> 190
 Glu Glu Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 1 5 10

<210> 191
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> 智人

<220>
 <223> FGF21的折叠-8/环-8/折叠-9区域

[0120]

<400> 191
 Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
 1 5 10

<210> 192
 <211> 187
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> M53序列

<400> 192
 Met Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Trp Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg
 1 5 10 15
 His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg
 20 25 30
 Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys Ala Arg Gly Gln Ser Ala His
 35 40 45
 Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys
 50 55 60
 Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys Met Gly Ala Asp Gly Lys Met
 65 70 75 80
 Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu Asp Cys Ala Phe Glu Glu
 85 90 95
 Ile Arg Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Arg Ser Glu Lys His Arg Leu
 100 105 110
 Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg
 115 120 125
 Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu Pro Met Leu Pro Met Val Pro
 130 135 140
 Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser

145	150	155	160
Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly			
165	170		175
Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe Glu Lys			
180	185		

<210> 193
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> M139序列

<400> 193

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp			
1	5	10	15
Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly			
20	25	30	
Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys			
35	40	45	
Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala			
50	55	60	
Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys			
65	70	75	80
Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu			
85	90	95	
Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Leu Pro Asp Gly Tyr Asn Val Tyr			
100	105	110	
Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln			
115	120	125	
Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu			
130	135	140	
Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His			
145	150	155	160
Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp			
165	170	175	
Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe			
180	185	190	
Glu Lys			

[0121]

<210> 194
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> M140序列

<400> 194

Arg Pro Leu Ala Phe Ser Asp Ala Gly Pro His Val His Tyr Gly Trp			
1	5	10	15
Gly Asp Pro Ile Arg Leu Arg His Leu Tyr Thr Ser Gly Pro His Gly			
20	25	30	
Leu Ser Ser Cys Phe Leu Arg Ile Arg Ala Asp Gly Val Val Asp Cys			
35	40	45	
Ala Arg Gly Gln Ser Ala His Ser Leu Leu Glu Ile Lys Ala Val Ala			
50	55	60	
Leu Arg Thr Val Ala Ile Lys Gly Val His Ser Val Arg Tyr Leu Cys			
65	70	75	80
Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu			
85	90	95	
Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr			
100	105	110	
Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln			

Arg	Gln	Leu	Tyr	Lys	Asn	Arg	Gly	Phe	Leu	Pro	Leu	Ser	His	Phe	Leu
115						120						125			
130						135						140			
Pro	Met	Leu	Pro	Met	Val	Pro	Glu	Glu	Pro	Glu	Asp	Leu	Arg	Gly	His
145						150					155				160
Leu	Glu	Ser	Asp	Met	Phe	Ser	Ser	Pro	Leu	Glu	Thr	Asp	Ser	Met	Asp
					165					170				175	
Pro	Phe	Gly	Leu	Val	Thr	Gly	Leu	Glu	Ala	Val	Arg	Ser	Pro	Ser	Phe
					180					185				190	
Glu	Lys														

<210> 195
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> M141序列

<400> 195

Arg	Pro	Leu	Ala	Phe	Ser	Asp	Ala	Gly	Pro	His	Val	His	Tyr	Gly	Trp
1				5				10				15			
Gly	Asp	Pro	Ile	Arg	Leu	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	His	Gly
							20		25				30		
Leu	Ser	Ser	Cys	Phe	Leu	Arg	Ile	Arg	Ala	Asp	Gly	Val	Val	Asp	Cys
							35		40			45			
Ala	Arg	Gly	Gln	Ser	Ala	His	Ser	Leu	Leu	Glu	Ile	Lys	Ala	Val	Ala
							50		55			60			
Leu	Arg	Thr	Val	Ala	Ile	Lys	Gly	Val	His	Ser	Val	Arg	Tyr	Leu	Cys
							65		70			75			80
Met	Gly	Ala	Asp	Gly	Lys	Met	Gln	Gly	Leu	Leu	Gln	Tyr	Ser	Glu	Glu
							85		90			95			
Asp	Cys	Ala	Phe	Glu	Glu	Ile	Leu	Cys	Asp	Gly	Tyr	Asn	Val	Tyr	
							100		105			110			
Arg	Ser	Glu	Lys	His	Arg	Leu	Pro	Val	Ser	Leu	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln
							115		120			125			
Arg	Gln	Leu	Tyr	Lys	Asn	Arg	Gly	Phe	Leu	Pro	Leu	Ser	His	Phe	Leu
							130		135			140			
Pro	Met	Leu	Pro	Met	Val	Pro	Glu	Glu	Pro	Glu	Asp	Leu	Arg	Gly	His
							145		150			155			160
Leu	Glu	Ser	Asp	Met	Phe	Ser	Ser	Pro	Leu	Glu	Thr	Asp	Ser	Met	Asp
							165		170			175			
Pro	Phe	Gly	Leu	Val	Thr	Gly	Leu	Glu	Ala	Val	Arg	Ser	Pro	Ser	Phe
							180		185			190			
Glu	Lys														

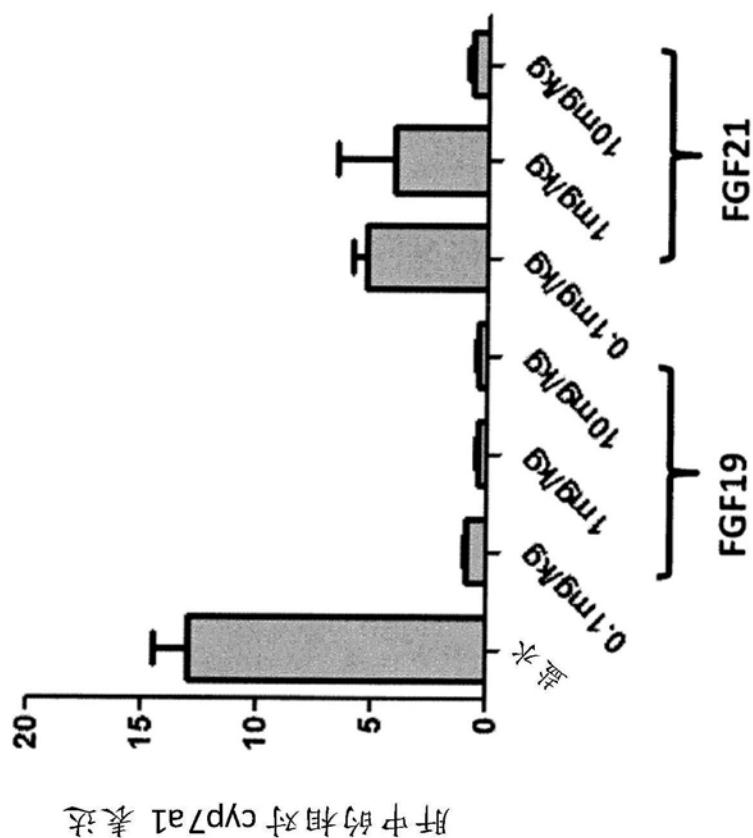
<210> 196
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> M160序列

<400> 196

Arg	Pro	Leu	Ala	Phe	Ser	Asp	Ala	Gly	Pro	His	Val	His	Tyr	Gly	Trp
1				5				10				15			
Gly	Asp	Pro	Ile	Arg	Gln	Arg	His	Leu	Tyr	Thr	Ser	Gly	Pro	His	Gly
							20		25			30			
Leu	Ser	Ser	Cys	Phe	Leu	Arg	Ile	Arg	Ala	Asp	Gly	Val	Val	Asp	Cys
							35		40			45			
Ala	Arg	Gly	Gln	Ser	Ala	His	Ser	Leu	Leu	Glu	Ile	Lys	Ala	Val	Ala
							50		55			60			
Leu	Arg	Thr	Val	Ala	Ile	Lys	Gly	Val	His	Ser	Val	Arg	Tyr	Leu	Cys

65 70 75 80
Met Gly Ala Asp Gly Lys Met Gln Gly Leu Leu Gln Tyr Ser Glu Glu
85 90 95
Asp Cys Ala Phe Glu Glu Glu Ile Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
100 105 110
Arg Ser Glu Lys His Arg Leu Pro Val Ser Leu Ser Ser Ala Lys Gln
115 120 125
[0123] Arg Gln Leu Tyr Lys Asn Arg Gly Phe Leu Pro Leu Ser His Phe Leu
130 135 140
Pro Met Leu Pro Met Val Pro Glu Glu Pro Glu Asp Leu Arg Gly His
145 150 155 160
Leu Glu Ser Asp Met Phe Ser Ser Pro Leu Glu Thr Asp Ser Met Asp
165 170 175
Pro Phe Gly Leu Val Thr Gly Leu Glu Ala Val Arg Ser Pro Ser Phe
180 185 190
Glu Lys



叶片中的相对 Cyp7a1 表达

图1

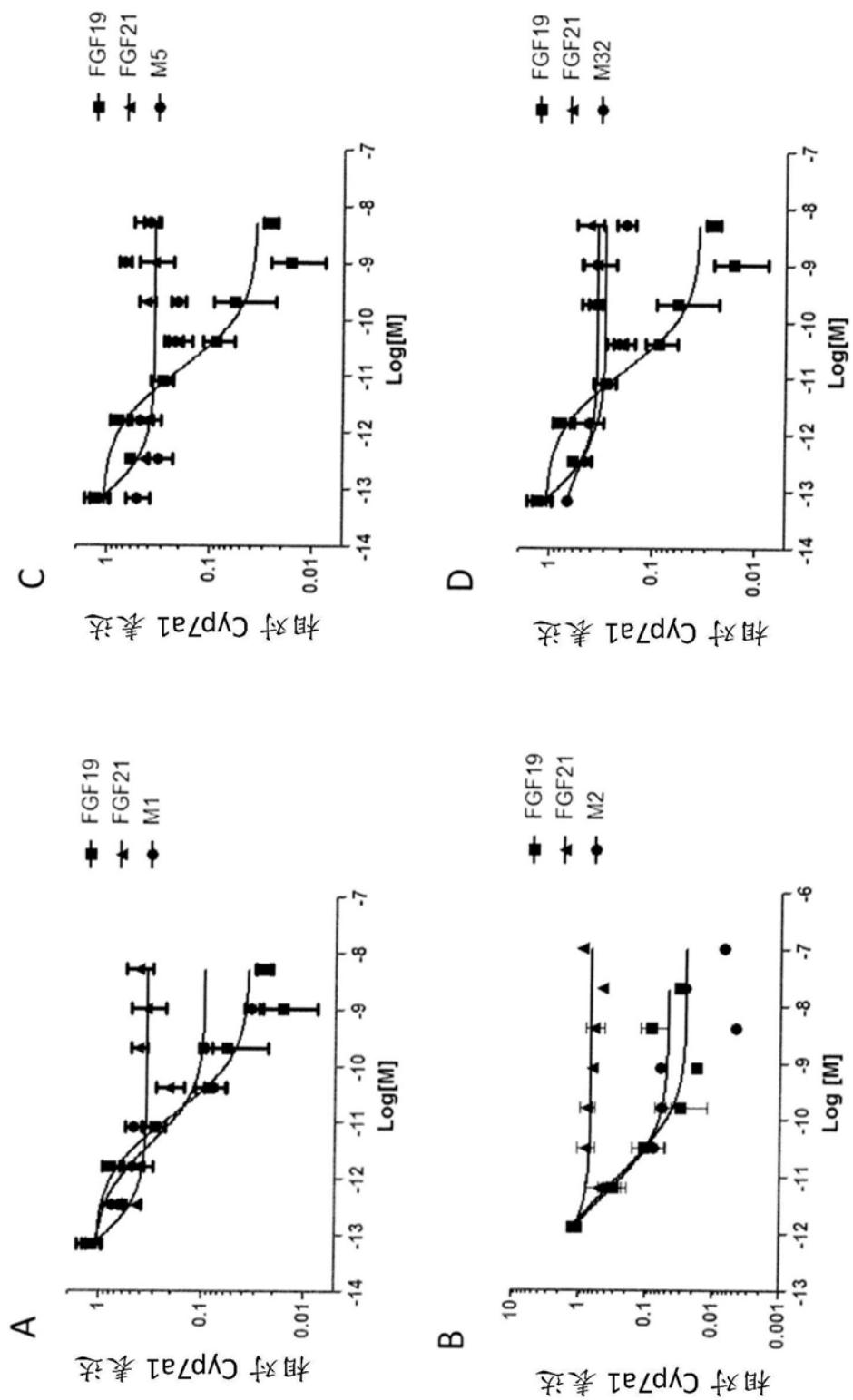


图2A-2D

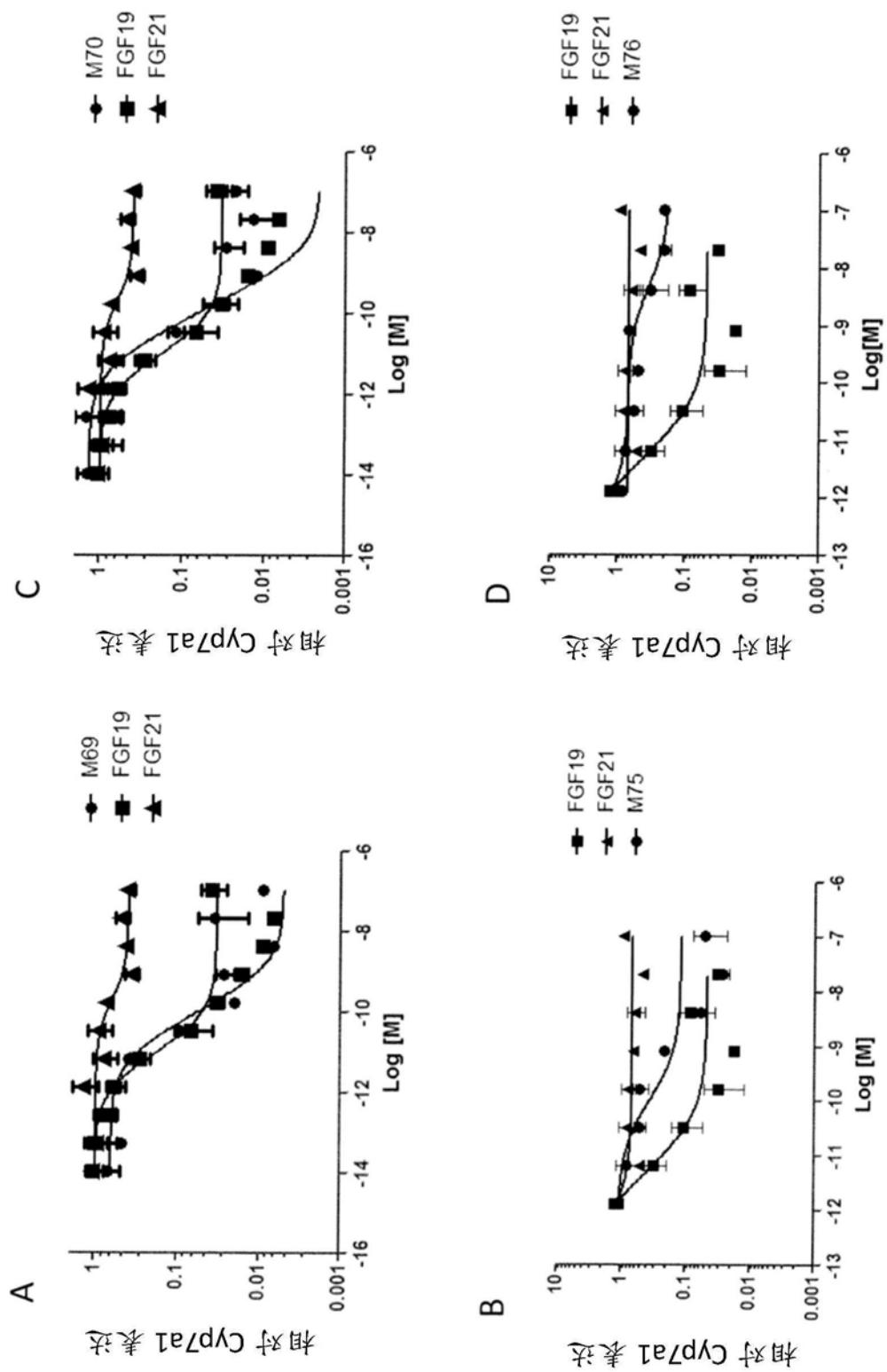


图3A-3D

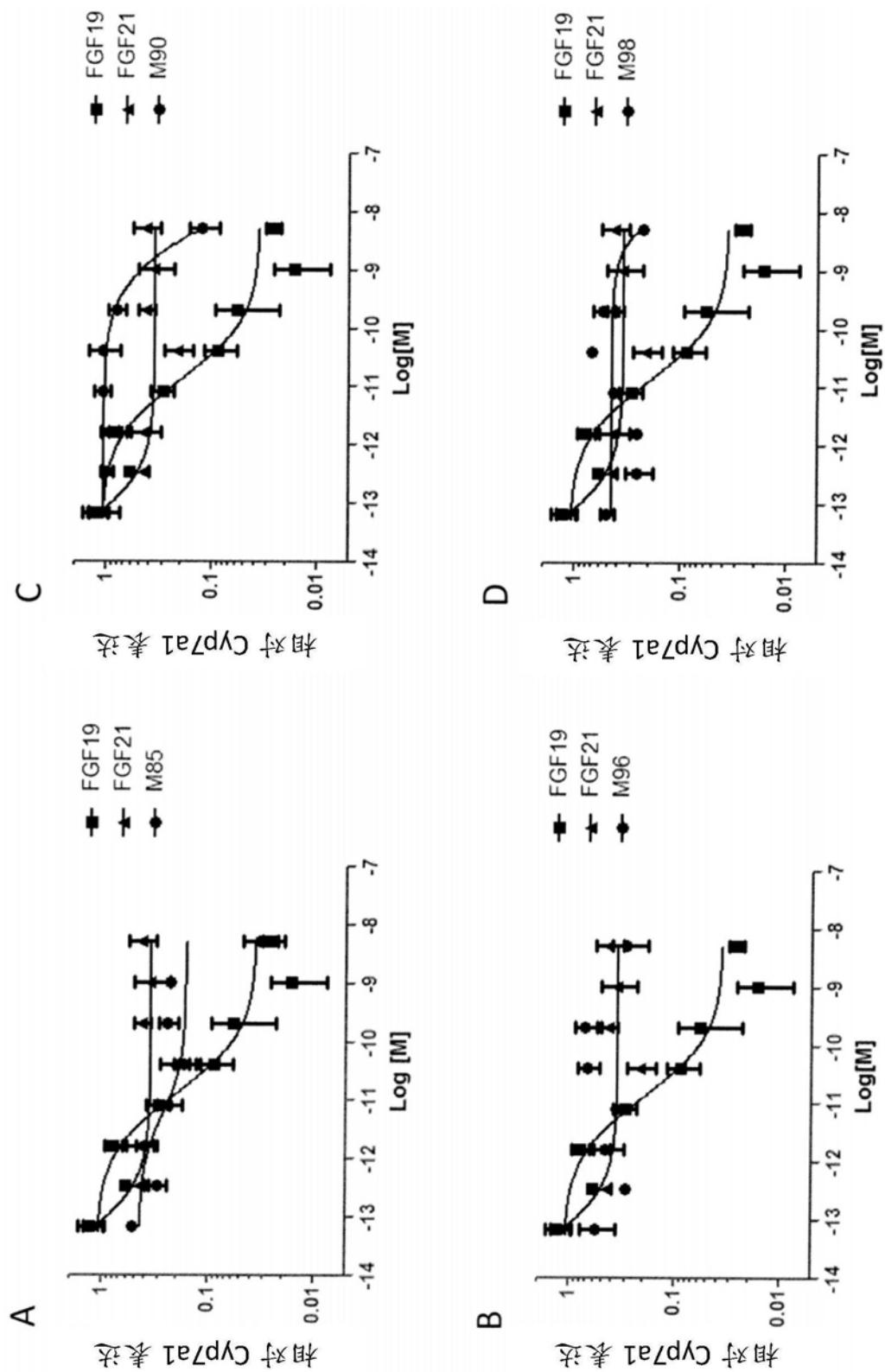


图4A-4D

变体	Cyp7a1 IC50 (pM)	相对 Cyp7a1 表达	HCC 评分	
			盐水处理的	0.00
FGF19	2.3	4%	1.00	
FGF21	n/a	35%	0.00	
M1	1.1	10%	0.04	
M2	0.9	2%	0.06	
M5	n/a	100%	0.00	
M32	n/a	100%	0.00	
M69	8.6	0.5%	0.00	
M70	4.8	0.2%	0.00	
M75	34	12%	0.00	
M76	n/a	17%	0.00	
M85	3.6	16%	0.00	
M90	859	100%	1.00	
M96	n/a	100%	1.00	
M98	n/a	100%	1.00	

图5

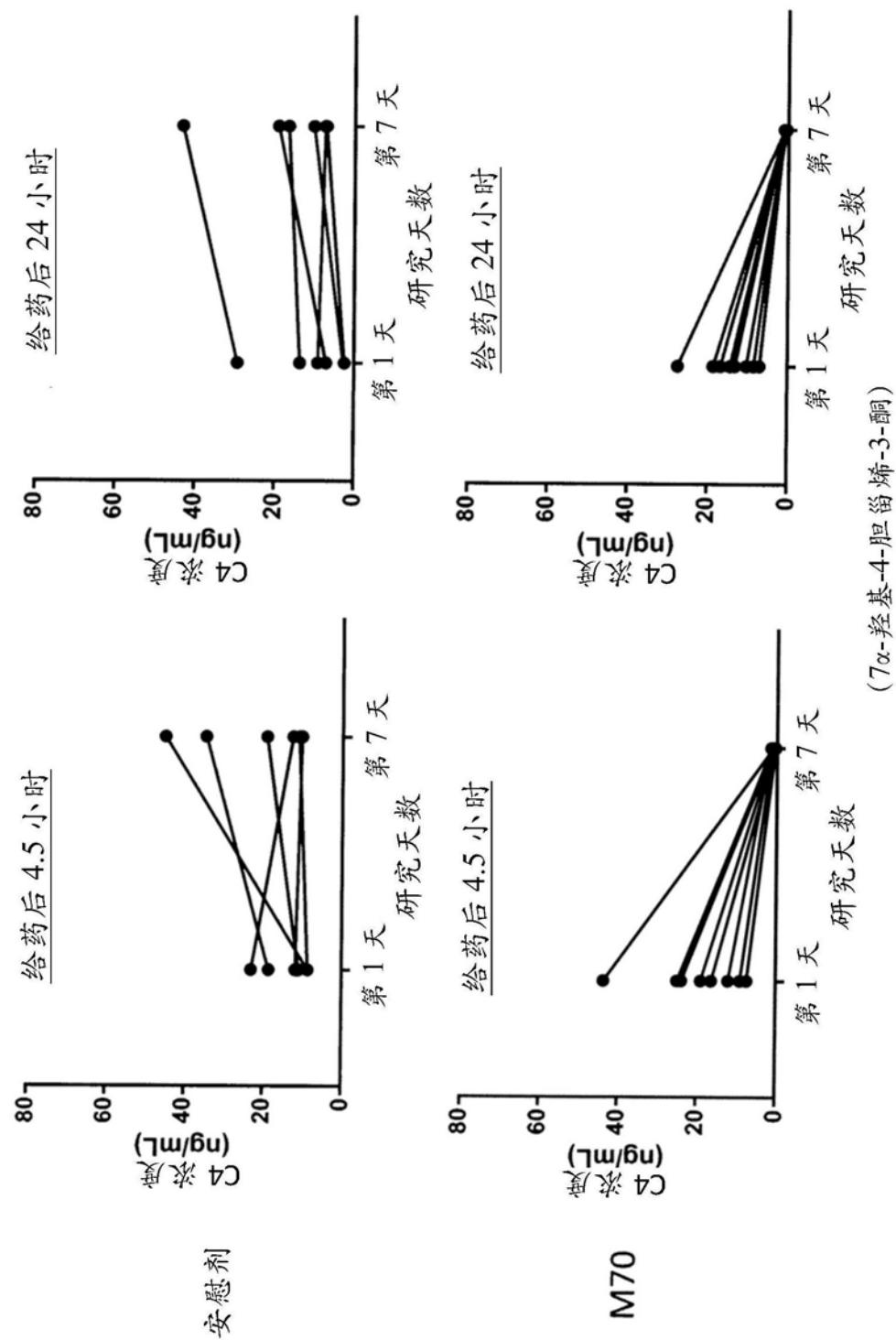


图6

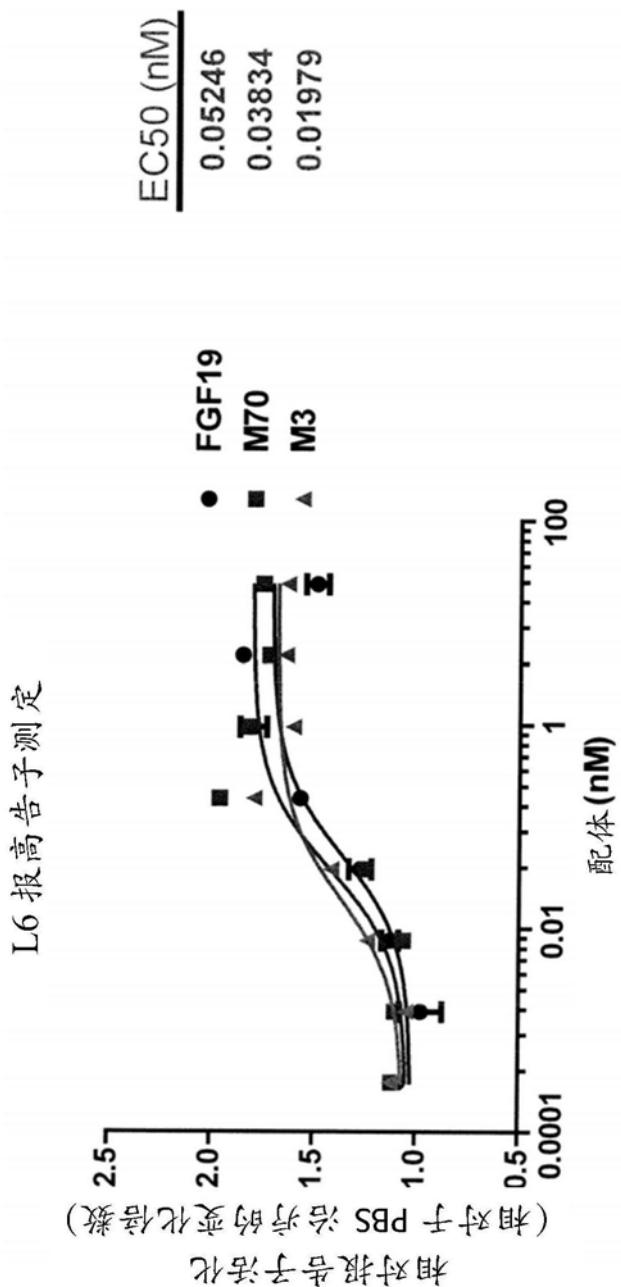


图7