



(12) 发明专利



(10) 授权公告号 CN 110430890 B

(45) 授权公告日 2024. 09. 10

(21) 申请号 201780082790.4	(73) 专利权人 科乐斯疗法公司
(22) 申请日 2017.11.09	地址 美国马萨诸塞州
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 110430890 A	(72) 发明人 J.S.西拉 J.拉基
(43) 申请公布日 2019.11.08	(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
(30) 优先权数据 62/420476 2016.11.10 US 62/531943 2017.07.13 US	专利代理师 甘霖 黄希贵
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2019.07.09	(51) Int.Cl. A61K 38/17 (2006.01) C07K 14/705 (2006.01)
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2017/060960 2017.11.09	(56) 对比文件 W0 2016164501 A1,2016.10.13 CN 101687016 A,2010.03.31
(87) PCT国际申请的公布数据 W02018/089706 EN 2018.05.17	审查员 王娟
	权利要求书2页 说明书41页 序列表97页 附图14页

(54) 发明名称
激活素受体IIA型变体及其使用方法

(57) 摘要
本发明的特征在于包含细胞外ActRIIa变体的多肽。在一些实施方案中,本发明的多肽包含与Fc结构域单体或部分融合的细胞外ActRIIa变体。本发明的特征还在于使用所述多肽治疗涉及肌肉的无力和萎缩的疾病和病况,例如,Duchenne肌营养不良症、面肩肱型肌营养不良症、包涵体肌炎、肌萎缩侧索硬化症、肌肉减少症;或癌症恶病质;或代谢疾病,例如肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的药物组合物和方法。

1. 多肽, 其由GAILGRSETQECLFYNNWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIVKKGWCW LDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVTTQPTS (SEQ ID NO:69) 的序列和连接至 SEQ ID NO:69 的 C-末端的 Fc 结构域单体组成, 任选地其中所述 Fc 结构域单体通过接头多肽连接至 SEQ ID NO:69 的 C-末端。

2. 权利要求 1 的多肽, 其中所述多肽由 SEQ ID NO:69 的序列、Fc 结构域单体和将所述 Fc 结构域单体连接至 SEQ ID NO:69 的 C-末端的接头多肽组成。

3. 权利要求 1 或 2 的多肽, 其中所述多肽是同二聚体的形式。

4. 权利要求 1 或 2 的多肽, 其中所述接头多肽具有 GA、GS、GG、GGA、GGS、GGG、GGGA (SEQ ID NO:98)、GGGS (SEQ ID NO:99)、GGGG (SEQ ID NO:100)、GGGGA (SEQ ID NO:101)、GGGGS (SEQ ID NO:102)、GGGGG (SEQ ID NO:103)、GGAG (SEQ ID NO:104)、GGSG (SEQ ID NO:105)、AGGG (SEQ ID NO:106)、SGGG (SEQ ID NO:107)、GAGA (SEQ ID NO:108)、GSGS (SEQ ID NO:109)、GAGAGA (SEQ ID NO:110)、GSGSGS (SEQ ID NO:111)、GAGAGAGA (SEQ ID NO:112)、GSGSGSGS (SEQ ID NO:113)、GAGAGAGAGA (SEQ ID NO:114)、GSGSGSGSGS (SEQ ID NO:115)、GAGAGAGAGAGA (SEQ ID NO:116)、GSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:117)、GGAGGA (SEQ ID NO:118)、GGSGGS (SEQ ID NO:119)、GGAGGAGGA (SEQ ID NO:120)、GGSGGSGGS (SEQ ID NO:121)、GGAGGAGGAGGA (SEQ ID NO:122)、GGSGGSGGSGGS (SEQ ID NO:123)、GGAGGGAG (SEQ ID NO:124)、GGSGGGSG (SEQ ID NO:125)、GGAGGGAGGGAG (SEQ ID NO:126)、GGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:127)、GGGGAGGGGAGGGGA (SEQ ID NO:128)、GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:129)、GGGAG (SEQ ID NO:130)、GGGAGG (SEQ ID NO:131)、GGGAGGG (SEQ ID NO:132)、AAAL (SEQ ID NO:133)、AAAK (SEQ ID NO:134)、AAAR (SEQ ID NO:135)、EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO:136)、GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO:137)、AEAAAKEAAKA (SEQ ID NO:138)、KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO:139)、GENLYFQSGG (SEQ ID NO:140)、SACYCELS (SEQ ID NO:141)、RSIAT (SEQ ID NO:142)、RPACKIPNDLKQKVMNH (SEQ ID NO:143)、GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSG TGSG (SEQ ID NO:144)、AAANSSIDLISVPVDSR (SEQ ID NO:145)、GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSE GGGSEGGGSGGGS (SEQ ID NO:146)、EAAAK (SEQ ID NO:147) 或 PAPAP (SEQ ID NO:148) 的氨基酸序列。

5. 权利要求 1 或 2 的多肽, 其中所述 Fc 结构域单体是人 IgG1 Fc 结构域单体。

6. 核酸分子, 其编码权利要求 1-5 中任一项的多肽。

7. 载体, 其包含权利要求 6 的核酸分子。

8. 表达权利要求 1-5 中任一项的多肽的宿主细胞。

9. 药物组合物, 其包含权利要求 1-5 中任一项的多肽, 和一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。

10. 权利要求 1-5 中任一项的多肽在制备用于增加有此需要的受试者中的肌肉质量的药物中的用途。

11. 根据权利要求 10 的用途, 其中所述受试者具有 Duchenne 肌营养不良症、面肩肱型肌营养不良症、包涵体肌炎、肌萎缩侧索硬化症、肌肉减少症或癌症恶病质。

12. 权利要求 1-5 中任一项的多肽在制备用于治疗具有涉及肌肉的无力和/或萎缩的疾病或病况的受试者的药物中的用途。

13. 根据权利要求 12 的用途, 其中所述疾病或病况是 Duchenne 肌营养不良症、面肩肱型

肌营养不良症、包涵体肌炎、肌萎缩侧索硬化症、肌肉减少症或癌症恶病质。

14. 权利要求1-5中任一项的多肽在制备用于治疗具有Duchenne肌营养不良症的受试者的药物中的用途。

15. 权利要求1-5中任一项的多肽在制备用于治疗具有面肩肱型肌营养不良症的受试者的药物中的用途。

16. 权利要求1-5中任一项的多肽在制备用于治疗具有包涵体肌炎的受试者的药物中的用途。

17. 权利要求1-5中任一项的多肽在制备用于治疗具有肌萎缩侧索硬化症的受试者的药物中的用途。

18. 权利要求1-5中任一项的多肽在制备用于治疗具有肌肉减少症的受试者的药物中的用途。

19. 权利要求1-5中任一项的多肽在制备用于治疗具有癌症恶病质的受试者的药物中的用途。

激活素受体IIA型变体及其使用方法

[0001] 发明背景

[0002] Duchenne肌营养不良症 (DMD)、面肩肱型肌营养不良症 (FSHD)、包涵体肌炎 (IBM) 和肌萎缩侧索硬化症 (ALS) 是涉及控制随意肌肉运动的肌肉和/或运动神经元的无力和萎缩的肌肉疾病的实例。DMD由X连锁的肌营养不良蛋白基因中的突变引起,并且特征在于所有骨骼肌中的进行性肌肉退化和无力。FSHD尤其影响面部、肩部、上臂和小腿的骨骼肌。IBM是一种炎性肌肉疾病,其主要影响大腿的肌肉和控制手指和手腕屈曲的手臂的肌肉。ALS是一种运动神经元疾病,其特征在于由于运动神经元的退化的导致全身肌肉僵硬、肌肉抽搐和肌肉萎缩。改善具有这些破坏性肌肉疾病的受试者的治疗和存活的努力尚未成功。

[0003] 体重过重在美国是一个日益严重的问题,其中患病率为人群的近似25%。增加的内脏和皮下脂肪引起各个器官的功能障碍。体重过重是一系列并发症(包括肥胖症、糖尿病(例如,1型和2型糖尿病)、心血管疾病和几种形式的癌症)的风险因素。胰岛素抵抗也与肥胖有关,并且当胰腺组织需要增加量的胰岛素时发生。一旦胰腺 β 细胞不能可以产生足够的胰岛素以满足需求,就发生高血糖症并且发生2型糖尿病。据信肥胖中增加的脂肪细胞在该过程中起作用。尽管肥胖和代谢疾病诸如糖尿病(例如,1型和2型糖尿病)和胰岛素抵抗普遍存在,但很少有治疗选项。

[0004] 需要用于这些肌肉和代谢疾病的新型治疗。

[0005] 发明概述

[0006] 本发明的特征在于包含细胞外激活素受体IIa型 (ActRIIa) 变体的多肽。在一些实施方案中,本发明的多肽包含与Fc结构域单体或部分的N-或C-末端融合的细胞外ActRIIa变体。此类部分可以通过氨基酸或其他共价键连接,并且可以增加多肽的稳定性。包括与Fc结构域单体融合的细胞外ActRIIa变体的多肽也可以通过两个Fc结构域单体之间的相互作用形成二聚体(例如,同二聚体或异二聚体)。本发明的多肽可用于增加受试者中的肌肉质量和强度,所述受试者具有涉及肌肉的无力和萎缩的疾病或病况,例如,Duchenne肌营养不良症 (DMD)、面肩肱型肌营养不良症 (FSHD)、包涵体肌炎 (IBM)、肌萎缩侧索硬化症 (ALS)、肌肉减少症或癌症恶病质。本发明的多肽还可用于在具有代谢疾病、例如肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展代谢疾病、例如肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者中降低体重、降低体脂、增加葡萄糖清除率、增加胰岛素敏感性或降低空腹胰岛素水平。进一步,本发明的多肽还可用于影响具有发展涉及肌肉无力和萎缩的疾病或病况或代谢疾病的风险或具有涉及肌肉无力和萎缩的疾病或病况或代谢疾病的受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或骨形态发生蛋白9 (BMP9) 信号传导。

[0007] 在一个方面,本发明的特征在于包含细胞外激活素受体IIa型 (ActRIIa) 变体的多肽,所述变体具有以下序列:

[0008] GAILGRSETQECLX₁X₂NANWX₃X₄X₅X₆TNQTGVEX₇CX₈GX₉X₁₀X₁₁X₁₂X₁₃X₁₄HGX₁₅ATWX₁₆NISGSIEIVX₁₇X₁₈GXX₁₉X₂₀X₂₁DX₂₂NCYDRTDCVEX₂₃X₂₄X₂₅X₂₆PX₂₇VYFCCCEGNCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SFQID NO:1), 其中X₁是F或Y;X₂是F或Y;X₃是E或A;X₄是K或L;X₅是D或E;X₆是R或A;X₇是P或R;X₈是Y或E;X₉是D或E;X₁₀是K或Q;X₁₁是D或A;X₁₂是K或A;X₁₃是R或A;X₁₄是R或L;X₁₅是F或Y;X₁₆是K、R

或A;X₁₇是K、A、Y、F或I;X₁₈是Q或K;X₁₉是W或A;X₂₀是L或A;X₂₁是D、K、R、A、F、G、M、N或I;X₂₂是I、F或A;X₂₃是K或T;X₂₄是K或E;X₂₅是D或E;X₂₆是S或N;且X₂₇是E或Q,且其中所述变体相对于具有SEQ ID NO:73的序列的野生型细胞外ActRIIa或具有SEQ ID NO:76-96的序列中的任一个的细胞外ActRIIa具有至少一个氨基酸取代。

[0009] 在一些实施方案中,所述变体具有以下序列:

[0010] GAILGRSETQECLFX₂NANWX₃X₄X₅X₆TNQTGVEX₇CX₈GX₉KX₁₁X₁₂X₁₃X₁₄HGX₁₅ATWX₁₆NISGSIEI
VX₁₇X₁₈GX₁₉X₂₀X₂₁DX₂₂NCYDRTDCVEX₂₃X₂₄X₂₅X₂₆PX₂₇VYFCCCEGNMCNEKFSYFPPEMEVTQPTS {SEQ ID
NO:2},其中X₂、X₃、X₄、X₅、X₆、X₇、X₈、X₉、X₁₁、X₁₂、X₁₃、X₁₄、X₁₅、X₁₆、X₁₇、X₁₈、X₁₉、X₂₀、X₂₁、X₂₂、X₂₃、
X₂₄、X₂₅、X₂₆和X₂₇如上所定义。

[0011] 在一些实施方案中,所述变体具有以下序列:

[0012] GAILGRSETQECLFX₂NANWEX₄X₅RTNQTGVEX₇CX₈GX₉KDKRX₁₄HGX₁₅ATWX₁₆NISGSIEIVKX₁₈G
CWLDDX₂₂NCYDRTDCVEX₂₃X₂₄X₂₅X₂₆PX₂₇VYFCCCEGNMCNEKFSYFPPEMEVTQPTS (SEQ ID NO:3),其中
X₂、X₄、X₅、X₇、X₈、X₉、X₁₄、X₁₅、X₁₆、X₁₈、X₂₂、X₂₃、X₂₄、X₂₅、X₂₆和X₂₇如上所定义。

[0013] 在一些实施方案中,所述变体具有以下序列:

[0014] GAILGRSETQECLFX₂NANWEX₄DRTNQTGVEX₇CX₈GX₉KDKRX₁₄HGX₁₅ATWX₁₆NISGSIEIVKX₁₈G
CWLDDX₂₂NCYDRTDCVEX₂₃KX₂₅X₂₆PX₂₇VYFCCCEGNMCNEKFSYFPPEMEVTQPTS (SEQ ID NO:4),其中X₂、
X₄、X₇、X₈、X₉、X₁₄、X₁₅、X₁₆、X₁₈、X₂₂、X₂₃、X₂₅、X₂₆和X₂₇如上所定义。

[0015] 在一些实施方案中,所述变体具有以下序列:

[0016] GAILGRSETQECLFX₂NANWEX₄DRTNQTGVPCX₈GX₉KDKRX₁₄HCFATWKNISGSIEIVKX₁₈GCWLD
DINCYDRTDCVEX₂₃KX₂₅X₂₆PX₂₇VYFCCCEGNMCNEKFSYFPPEMEVTQPTS (SEQ ID NO:5),其中X₂、X₄、X₈、
X₉、X₁₄、X₁₈、X₂₃、X₂₅、X₂₆和X₂₇如上所定义。

[0017] 在任何前述实施方案中,X₁是F或Y。在任何前述实施方案中,X₂是F或Y。在任何前述实施方案中,X₃是E或A。在任何前述实施方案中,X₄是K或L。在任何前述实施方案中,X₅是D或E。在任何前述实施方案中,X₆是R或A。在任何前述实施方案中,X₇是P或R。在任何前述实施方案中,X₈是Y或E。在任何前述实施方案中,X₉是D或E。在任何前述实施方案中,X₁₀是K或Q。在任何前述实施方案中,X₁₁是D或A。在任何前述实施方案中,X₁₂是K或A。在任何前述实施方案中,X₁₃是R或A。在任何前述实施方案中,X₁₄是R或L。在任何前述实施方案中,X₁₅是F或Y。在任何前述实施方案中,X₁₆是K、R或A。在任何前述实施方案中,X₁₇是K、A、Y、F或I。在任何前述实施方案中,X₁₈是Q或K。在任何前述实施方案中,X₁₉是W或A。在任何前述实施方案中,X₂₀是L或A。在任何前述实施方案中,X₂₁是D、K、R、A、F、G、M、N或I。在任何前述实施方案中,X₂₂是I、F或A。在任何前述实施方案中,X₂₃是K或T。在任何前述实施方案中,X₂₄是K或E。在任何前述实施方案中,X₂₅是D或E。在任何前述实施方案中,X₂₆是S或N。在任何前述实施方案中,X₂₇是E或Q。在任何前述实施方案中,X₂₃是T,X₂₄是E,X₂₅是E,且X₂₆是N。在任何前述实施方案中,X₂₃是T,X₂₄是K,X₂₅是E,且X₂₆是N。在任何前述实施方案中,X₁₇是K。

[0018] 在任何前述实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:6-72中的任一个的序列。

[0019] 在任何前述实施方案中,位置X₂₄处的氨基酸可以用氨基酸K替代。

[0020] 在任何前述实施方案中,位置X₂₄处的氨基酸可以用氨基酸E替代。

[0021] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽可以进一步包含一个或多个氨基酸(例如,1、2、3、4、5、6或更多个氨基酸)的C-末端延伸。在一些实施方案中,所述C-末端延伸是氨

氨基酸序列NP。在一些实施方案中,所述C-末端延伸是氨基酸序列NPVTPK(SEQ ID NO:155)。

[0022] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽可以进一步包含与多肽的C-末端融合或共价连接的部分。在一些实施方案中,所述部分增加多肽的稳定性或改善多肽的药代动力学。在一些实施方案中,所述部分是Fc结构域、白蛋白结合肽、纤连蛋白结构域或人血清白蛋白。

[0023] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽可以进一步包含通过接头的方式与多肽的C-末端融合的Fc结构域单体。在一些实施方案中,包含与Fc结构域单体融合的本文所述的细胞外ActRIIa变体的多肽可以通过两个Fc结构域单体之间的相互作用形成二聚体(例如,同二聚体或异二聚体)。在一些实施方案中,所述Fc结构域单体具有SEQ ID NO:97的序列。

[0024] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽可以进一步包含通过接头的方式与多肽的C-末端融合的Fc结构域。在一些实施方案中,所述Fc结构域是野生型Fc结构域。在一些实施方案中,所述野生型Fc结构域具有SEQ ID NO:151的序列。在一些实施方案中,所述Fc结构域含有一个或多个氨基酸取代。在一些实施方案中,含有一个或多个氨基酸取代的Fc结构域不形成二聚体。

[0025] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽可以进一步包含通过接头的方式与多肽的C-末端融合的人血清白蛋白。在一些实施方案中,所述人血清白蛋白具有SEQ ID NO:154的序列。

[0026] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽可以进一步包含通过接头的方式与多肽的C-末端融合的纤连蛋白结构域。在一些实施方案中,纤连蛋白结构域肽具有SEQ ID NO:153的序列。

[0027] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽可以进一步包含通过接头的方式与多肽的C-末端融合的人血清白蛋白。在一些实施方案中,所述人血清白蛋白具有SEQ ID NO:154的序列。

[0028] 在一些实施方案中,所述接头是氨基酸间隔区。在一些实施方案中,所述氨基酸间隔区是GGG、GGGA(SEQ ID NO:98)、GGGG(SEQ ID NO:100)、GGGAG(SEQ ID NO:130)、GGGAGG(SEQ ID NO:131)或GGGAGGG(SEQ ID NO:132)。

[0029] 在一些实施方案中,所述氨基酸间隔区是GGGS(SEQ ID NO:99)、GGGGA(SEQ ID NO:101)、GGGGS(SEQ ID NO:102)、GGGGG(SEQ ID NO:103)、GGAG(SEQ ID NO:104)、GGSG(SEQ ID NO:105)、AGGG(SEQ ID NO:106)、SGGG(SEQ ID NO:107)、GAGA(SEQ ID NO:108)、GSGS(SEQ ID NO:109)、GAGAGA(SEQ ID NO:110)、GSGSGS(SEQ ID NO:111)、GAGAGAGA(SEQ ID NO:112)、GSGSGSGS(SEQ ID NO:113)、GAGAGAGAGA(SEQ ID NO:114)、GSGSGSGSGS(SEQ ID NO:115)、GAGAGAGAGAGA(SEQ ID NO:116)和GSGSGSGSGSGS(SEQ ID NO:117)、GGAGGA(SEQ ID NO:118)、GGSGGS(SEQ ID NO:119)、GGAGGAGGA(SEQ ID NO:120)、GGSGGSGGS(SEQ ID NO:121)、GGAGGAGGAGGA(SEQ ID NO:122)、GGSGGSGGSGGS(SEQ ID NO:123)、GGAGGGAG(SEQ ID NO:124)、GGSGGGSG(SEQ ID NO:125)、GGAGGGAGGGAG(SEQ ID NO:126)和GGSGGGSGGGSG(SEQ ID NO:127)、GGGGAGGGGAGGGGA(SEQ ID NO:128)、GGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:129)、AAAL(SEQ ID NO:133)、AAAK(SEQ ID NO:134)、AAAR(SEQ ID NO:135)、EGKSSGSGSESKST(SEQ ID NO:136)、GSAGSAAGSGEF(SEQ ID NO:137)、AEAAAKEAAKA(SEQ ID

NO:138)、KESGSVSSEQLAQFRSLD(SEQ ID NO:139)、GENLYFQSGG(SEQ ID NO:140)、SACYCELS(SEQ ID NO:141)、RSIAT(SEQ ID NO:142)、RPACKIPNDLKQKVMNH(SEQ ID NO:143)、GGSAGGSGSGSSGGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG(SEQ ID NO:144)、AAANSSIDLISVPVDSR(SEQ ID NO:145)、GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGS(SEQ ID NO:146)、EAAAK(SEQ ID NO:147)或PAPAP(SEQ ID NO:148)。

[0030] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽具有至少7天的血清半衰期。

[0031] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽以200pM或更高的 K_D 结合人骨形态发生蛋白9(BMP9)。在一些实施方案中,所述多肽结合激活素和/或肌肉生长抑制素且与人BMP9的结合减少(例如,微弱)。在一些实施方案中,所述多肽实质上不结合人BMP9。

[0032] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽以800pM或更低的 K_D 结合人激活素A。

[0033] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽以近似800pM或更低的 K_D 结合人激活素B。

[0034] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽以近似5pM或更高的 K_D 结合人GDF-11。

[0035] 在另一个方面,本发明的特征在于编码本文所述的多肽(例如,包含具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体的多肽)的核酸分子。在另一个方面,本发明的特征还在于包含本文所述的核酸分子的载体。

[0036] 在另一个方面,本发明的特征在于表达本文所述的多肽的宿主细胞,其中所述宿主细胞包含前两个方面中描述的核酸分子或载体,其中所述核酸分子或载体在宿主细胞中表达。

[0037] 在另一个方面,本发明的特征在于制备本文所述的多肽的方法,其中所述方法包括:a)提供包含本文所述的核酸分子或载体的宿主细胞,和b)在允许形成多肽的条件下在宿主细胞中表达所述核酸分子或载体。

[0038] 在另一个方面,本发明的特征在于药物组合物,其包含本文所述的多肽、核酸分子或载体和一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂。在药物组合物的一些实施方案中,所述多肽、核酸分子或载体呈治疗有效量。

[0039] 在另一个方面,本发明的特征还在于包含两个相同多肽的构建体(例如,同二聚体),每个多肽包含具有与Fc结构域单体(例如,SEQ ID NO:97的序列)的N-或C-末端融合的SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体。两个多肽中的两个Fc结构域单体相互作用以在构建体中形成Fc结构域。

[0040] 在另一个方面,本发明的特征还在于包含两个不同多肽的构建体(例如,异二聚体),每个多肽包含具有与Fc结构域单体(例如,SEQ ID NO:97的序列)的N-或C-末端融合的SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体。两个多肽中的两个Fc结构域单体相互作用以在构建体中形成Fc结构域。

[0041] 在另一个方面,本发明的特征在于增加有此需要的受试者中的肌肉质量的方法。所述方法包括向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物。

[0042] 在增加受试者中的肌肉质量的方法的一些实施方案中,所述受试者具有Duchenne肌营养不良症(DMD)、面肩肱型肌营养不良症(FSHD)、包涵体肌炎(IBM)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、肌肉减少症或癌症恶病质。

[0043] 在另一个方面,本发明的特征在于影响具有涉及肌肉的无力和萎缩的疾病或病况的受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导(例如,减少或抑制肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9与其受体的结合)的方法,其中所述方法包括向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物。在该方面的一些实施方案中,所述疾病或病况是DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质。

[0044] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来治疗具有DMD的受试者的方法。

[0045] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来治疗具有FSHD的受试者的方法。

[0046] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来治疗具有IBM的受试者的方法。

[0047] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来治疗具有ALS的受试者的方法。

[0048] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来减少有此需要的受试者中的体脂的方法。

[0049] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来减少有此需要的受试者中的体重的方法。

[0050] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来减少有此需要的受试者中的血液葡萄糖的方法。

[0051] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来增加有此需要的受试者中的胰岛素敏感性的方法。

[0052] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述受试者具有代谢疾病或处于发展代谢疾病的风险中。在一些实施方案中,所述代谢疾病选自肥胖症、1型糖尿病和2型糖尿病。

[0053] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来影响具有代谢疾病或处于发展代谢疾病的风险中的受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导(例如,减少或抑制肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9与其受体的结合)的方法。

[0054] 在另一个方面,本发明的特征在于通过向受试者施用治疗有效量的本文所述的多肽、核酸分子或载体或本文所述的药物组合物来治疗和/或预防受试者中的代谢疾病的方法。

[0055] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述代谢疾病选自肥胖症、1型糖尿病和2型糖尿病。在任何上述方面的一些实施方案中,所述代谢疾病是肥胖症。在任何上述方面的一些实施方案中,所述代谢疾病是1型糖尿病。在任何上述方面的一些实施方案中,所述代谢疾病是2型糖尿病。

[0056] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法降低所述受试者的体重和/或体重增加的百分比。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法降低所述受试者的体脂量和/或体脂的百分比。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法不影响所述受试者的

食物摄入的食欲。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法减少所述受试者的肥胖。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法降低所述受试者的附睾和肾周脂肪垫的重量。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法减少所述受试者的皮下和/或内脏脂肪的量。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法降低所述受试者的空腹胰岛素的水平。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法降低所述受试者的血液葡萄糖的水平。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法增加所述受试者的胰岛素敏感性。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法增加所述受试者的葡萄糖清除率。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法改善所述受试者的血清脂质概况。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法不减少瘦体重。

[0057] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法增加肌肉质量。

[0058] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法减少或抑制激活素和/或肌肉生长抑制素与其受体的结合。

[0059] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述多肽、核酸、载体或药物组合物以一定量施用,所述量足以增加肌肉质量和/或强度,影响受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,或减少或抑制激活素和/或肌肉生长抑制素与其受体的结合,

[0060] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述多肽、核酸、载体或药物组合物以一定量施用,所述量足以减少体脂,减少皮下脂肪量,减少内脏脂肪量,减少肥胖,减少附睾和肾周脂肪垫的重量,降低体脂百分比,降低体重,降低体重增加的百分比,降低空腹胰岛素水平,降低血液葡萄糖水平,增加胰岛素敏感性,影响受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少脂肪细胞的增殖,减少或抑制激活素和/或肌肉生长抑制素与其受体的结合,减少LDL,减少甘油三酯,改善血清脂质概况,调节胰岛素生物合成和/或从 β 细胞的分泌,延迟、推迟或减少对胰岛素的需求,或增加葡萄糖清除率。

[0061] 在本文所述的任何方法的一些实施方案中,所述方法不引起受试者中的血管并发症(例如,增加血管通透性或渗漏)。在本文所述的任何方法的一些实施方案中,所述方法增加受试者中的骨矿物质密度。

[0062] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:69的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:69的序列的变体具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸(例如,C-末端的1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸,例如,氨基酸NP或NPVTPK (SEQ ID NO:155))。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:69的序列(任选地具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸)的变体或含有所述变体的药物组合物来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0063] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:58的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:58的序列的变体具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸(例如,C-末端的1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸,例如,氨基酸NP或NPVTPK (SEQ ID NO:155))。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:58的序列(任选地具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸)的变体或含有所述变体的药物组合物来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0064] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:6的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:6的序列的变体具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸(例如,C-末端的1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸,例如,氨基酸NP或NPVTPK (SEQ ID NO:155))。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:6的序列(任选地具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸)的变体或含有所述变体的药物组合物来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0065] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:38的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:38的序列的变体具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸(例如,C-末端的1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸,例如,氨基酸NP或NPVTPK (SEQ ID NO:155))。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:38的序列(任选地具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸)的变体或含有所述变体的药物组合物来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有

肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0066] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:41的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:41的序列的变体具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸(例如,C-末端的1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸,例如,氨基酸NP或NPVTPK (SEQ ID NO:155))。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:41的序列(任选地具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸)的变体或含有所述变体的药物组合物来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0067] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:44的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:44的序列的变体具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸(例如,C-末端的1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸,例如,氨基酸NP或NPVTPK (SEQ ID NO:155))。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:44的序列(任选地具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸)的变体或含有所述变体的药物组合物来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0068] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:70的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:70的序列的变体具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸(例如,C-末端的1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸,例如,氨基酸NP或NPVTPK (SEQ ID NO:155))。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:70的序列(任选地具有位置 X_{17} 处的氨基酸K,位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸)的变体或含有所述变体的药物组合物来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例

如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0069] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:71的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:71的序列的变体具有位置X₁₇处的氨基酸K,位置X₂₃、X₂₄、X₂₅和X₂₆处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸(例如,C-末端的1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸,例如,氨基酸VTPK)。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:71的序列(任选地具有位置X₁₇处的氨基酸K,位置X₂₃、X₂₄、X₂₅和X₂₆处的氨基酸序列TEEN或TKEN,和/或C-末端延伸)的变体或含有所述变体的药物组合物来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0070] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述变体具有SEQ ID NO:72的序列。在一些实施方案中,具有SEQ ID NO:72的序列的变体具有位置X₁₇处的氨基酸K,和/或位置X₂₃、X₂₄、X₂₅和X₂₆处的氨基酸序列TEEN或TKEN。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法包括通过向受试者施用治疗有效量的具有SEQ ID NO:72的序列(任选地具有位置X₁₇处的氨基酸K,和/或位置X₂₃、X₂₄、X₂₅和X₂₆处的氨基酸序列TEEN或TKEN)的变体来增加肌肉质量或治疗有此需要的受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者)中的肌肉病症,影响受试者(例如,具有DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展DMD、FSHD、IBM、ALS、肌肉减少症、癌症恶病质、肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导,减少受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的受试者)中的体脂或体重,或治疗和/或预防受试者(例如,具有肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病或处于发展肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病的风险中的受试者)中的代谢疾病。

[0071] 定义

[0072] 如本文所用,术语“细胞外激活素受体IIa型(ActRIIa)变体”是指相对于野生型细胞外ActRIIa(例如,下文所示的SEQ ID NO:75的序列的粗体部分)或具有SEQ ID NO:76-96的序列中的任一个的细胞外ActRIIa具有至少一个氨基酸取代的包括单个跨膜受体ActRIIa的可溶性、细胞外部分的肽。野生型、人ActRIIa前体蛋白的序列如下所示(SEQ ID NO:75),其中信号肽为斜体,且细胞外部分为粗体。

[0073] 野生型、人ActRIIa前体蛋白(SEQ ID NO:75):

[0074] MGAAAKLAFVFLISCSGAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNIS

GSIEIVKQGCWLDDINCYDRDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTSNPVTPKPPYYNILLYSLVPLMLIAGIVICAFWVYRHHKMAYPPVLVPTQDPGPPPPSPLLGLKPOLLEVKARGRFSGCVWKAQLLENYVAVKIFPIQDKQSWQNEYEVYSLPGMKHENILQFIGAEKRGTSVDVDLWLITAFHEKGSLSDFLKANVVSWNELCHIAETMARGLAYLHEDIPGLKDGHKPAISHRDIKSKNVLLKNNLTACIADFGALAKFEAGKSAGDTHGQVGTRRYMAPEVLEGAINFQRDAFLRIDMYAMGLVLWELASRCTAADGPVDEYMLPFEEEIGQHPSLEDMOEVVVHKKKRPVLRDYWQKHAGMAMLCETIEECWDHDAEARLSAGCVGERITQMQRLTNIITTEDIVTVVTMTNVDFPPKESSL。

[0075] 细胞外ActRIIa变体可以具有SEQ ID NO:1-72中的任一个的序列。在具体实施方案中,细胞外ActRIIa变体具有SEQ ID NO:6-72中的任一个的序列(表2)。在一些实施方案中,细胞外ActRIIa变体可以与野生型细胞外ActRIIa(SEQ ID NO:73)的序列具有至少85%(例如,至少85%、87%、90%、92%、95%、97%或更高)氨基酸序列同一性。

[0076] 如本文所用,术语“细胞外ActRIIb变体”是指相对于野生型细胞外ActRIIb(例如,SEQ ID NO:74的序列)具有至少一个氨基酸取代的包含单个跨膜受体ActRIIb的可溶性、细胞外部分ActRIIb的肽。细胞外ActRIIb变体可以具有如下所示的SEQ ID NO:149的序列:

[0077] 细胞外ActRIIb变体(SEQ ID NO:149):

[0078] GRGEAETRECIFYNANWEKDRTNQSGLEPCYGDQDKRRHCFASWKNSSGTIELVKQGCWLDDINCYDRQECVAKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT。

[0079] 如本文所用,术语“接头”是指两个元件(例如肽或蛋白结构域)之间的连接。本文所述的多肽可以包括与部分融合的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)。所述部分可以增加稳定性或改善多肽的药代动力学特性。所述部分(例如,Fc结构域单体,野生型Fc结构域,具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽,纤连蛋白结构域或人血清白蛋白)可以通过接头的方式与多肽融合。接头可以是共价键或间隔区。术语“键”是指化学键,例如酰胺键或二硫键,或由化学反应(例如,化学缀合)产生的任何种类的键。术语“间隔区”是指在两个元件(例如,肽或蛋白结构域)之间存在以提供两个元件之间的空间和/或柔性的部分(例如,聚乙二醇(PEG)聚合物)或氨基酸序列(例如,1-200个氨基酸序列)。氨基酸间隔区是多肽的一级序列的一部分(例如,通过多肽主链与间隔的肽融合)。例如在形成Fc结构域的两个铰链区之间形成二硫键不被认为是接头。

[0080] 如本文所用,术语“Fc结构域”是指两个Fc结构域单体的二聚体。Fc结构域与包含至少C_H2结构域和C_H3结构域的人Fc结构域具有至少80%序列同一性(例如,至少85%、90%、95%、97%或100%序列同一性)。Fc结构域单体包含第二和第三抗体恒定结构域(C_H2和C_H3)。在一些实施方案中,所述Fc结构域单体还包含铰链结构域。Fc结构域不包含能够充当抗原识别区域的免疫球蛋白的任何部分,例如可变结构域或互补决定区(CDR)。在野生型Fc结构域中,两个Fc结构域单体通过两个C_H3抗体恒定结构域以及在两个二聚化Fc结构域单体的铰链结构域之间形成的一个或多个二硫键之间的相互作用而二聚化。在一些实施方案中,可以使Fc结构域突变以缺乏效应子功能,这是典型的“死亡Fc结构域”。在某些实施方案中,Fc结构域中的每个Fc结构域单体包含C_H2抗体恒定结构域中的减少Fc结构域和Fc γ 受体之间的相互作用或结合的氨基酸取代。在一些实施方案中,所述Fc结构域含有一个或多个减少或抑制Fc结构域二聚化的氨基酸取代。Fc结构域可以是任何免疫球蛋白抗体同种型,包括IgG、IgE、IgM、IgA或IgD。另外,Fc结构域可以是IgG亚型(例如,IgG1、IgG2a、IgG2b、

IgG3或IgG4)。所述Fc结构域也可以是非天然存在的Fc结构域,例如重组Fc结构域。

[0081] 如本文所用,术语“白蛋白结合肽”是指12至16个氨基酸的氨基酸序列,其具有对血清白蛋白的亲合力和结合血清白蛋白的功能。白蛋白结合肽可以是不同来源(例如,人、小鼠或大鼠)的。在一些实施方案中,白蛋白结合肽具有序列DICLPWGCLW(SEQ ID NO:152)。

[0082] 如本文所用,术语“纤连蛋白结构域”是指细胞外基质的高分子量糖蛋白或其片段,其结合例如跨膜受体蛋白诸如整联蛋白和细胞外基质组分诸如胶原蛋白和纤维蛋白。在一些实施方案中,纤连蛋白结构域是具有UniProt ID NO:P02751的序列的氨基酸610-702的纤连蛋白III型结构域(SEQ ID NO:153)。在其他实施方案中,纤连蛋白结构域是adnectin蛋白。

[0083] 如本文所用,术语“人血清白蛋白”是指存在于人血浆中的白蛋白。人血清白蛋白是血液中最丰富的蛋白。其构成血清蛋白的约一半。在一些实施方案中,人血清白蛋白具有UniProt ID NO:P02768的序列(SEQ ID NO:154)。

[0084] 如本文所用,术语“融合”用于描述两个或更多个元件、组分或蛋白结构域(例如,肽或多肽)通过包括化学缀合、重组手段和化学键(例如,酰胺键)的手段组合或附接。例如,串联系列的两个单一肽可以通过化学缀合、化学键、肽接头或任何其他共价连接的手段融合以形成一个连续的蛋白结构,例如多肽。在本文所述多肽的一些实施方案中,细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)可以与部分(例如,Fc结构域单体(例如,SEQ ID NO:97的序列),野生型Fc结构域(例如,SEQ ID NO:151的序列),具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽(例如,SEQ ID NO:152的序列),纤连蛋白结构域(例如,SEQ ID NO:153的序列)或人血清白蛋白(例如,SEQ ID NO:154的序列))的N-或C-末端通过接头的方式以串联系列融合。例如,细胞外ActRIIa变体与部分(例如,Fc结构域单体,野生型Fc结构域,具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽,纤连蛋白结构域或人血清白蛋白)通过肽接头的方式融合,其中肽接头的N-末端通过化学键(例如,肽键)与细胞外ActRIIa变体的C-末端融合,并且肽接头的C-末端与部分(例如,Fc结构域单体,野生型Fc结构域,具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽,纤连蛋白结构域或人血清白蛋白)通过化学键(例如,肽键)融合。

[0085] 如本文所用,术语“C-末端延伸”是指将一个或多个氨基酸添加至包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-70(例如,SEQ ID NO:6-70)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽。C-末端延伸可以是1-6个氨基酸(例如,1、2、3、4、5、6或更多个氨基酸)。示例性的C-末端延伸是氨基酸序列NP(两个氨基酸C-末端延伸)和氨基酸序列NPVTPK(SEQ ID NO:155)(六个氨基酸C-末端延伸)。可以使用不破坏多肽的活性的任何氨基酸序列。SEQ ID NO:71(其为具有NP的C-末端延伸的SEQ ID NO:69的序列)和SEQ ID NO:72(其为具有NPVTPK的C-末端延伸的SEQ ID NO:69的序列)代表可以修饰本发明多肽以包括C-末端延伸的两种可能方式。

[0086] 如本文所用,术语“百分比(%)同一性”是指在比对序列和引入空位(如果必要)以实现最大百分比同一性(即,可以在候选和参考序列中的一者或两者中引入空位用于最佳

比对,并且为了比较的目的,可以忽略非同源序列)之后,候选序列(例如,细胞外ActRIIa变体)的氨基酸(或核酸)残基与参考序列(例如,野生型细胞外ActRIIa(例如,SEQ ID NO: 73))的氨基酸(或核酸)残基相同的百分比。为了确定百分比同一性的目的的比对可以以本领域技术内的各种方式,例如,使用公开获得的计算机软件诸如BLAST、ALIGN或Megalign (DNASTAR)软件来实现。本领域技术人员可以确定用于测量比对的适当参数,包括实现待比较序列全长内的最大比对所需的任何算法。在一些实施方案中,给定候选序列对、与或针对给定参考序列的百分比氨基酸(或核酸)序列同一性(其可以替代地表达为对、与或针对给定参考序列具有或包括特定百分比氨基酸(或核酸)序列同一性的给定候选序列)如下计算: $100 \times (A/B \text{ 的分数})$

[0087] 其中A是在候选序列和参考序列的比对中评分为相同的氨基酸(或核酸)残基的数目,并且其中B是参考序列中氨基酸(或核酸)残基的总数。在其中候选序列的长度不等于参考序列的长度的一些实施方案中,候选序列与参考序列的百分比氨基酸(或核酸)序列同一性不等于参考序列与候选序列的百分比氨基酸(或核酸)序列同一性。

[0088] 在具体实施方案中,比对用于与候选序列比较的参考序列可以显示候选序列在候选序列的全长或候选序列的连续氨基酸(或核酸)残基的选择部分上表现出50%至100%同一性。为了比较目的而比对的候选序列的长度为参考序列的长度的至少30%,例如,至少40%,例如,至少50%、60%、70%、80%、90%或100%。当候选序列中的位置被与参考序列中的相应位置相同的氨基酸(或核酸)残基占据时,则分子在该位置是相同的。

[0089] 如本文所用,术语“血清半衰期”是指在将治疗性蛋白施用于受试者的背景下,受试者中蛋白的血浆浓度减少一半所需的时间。蛋白可以从血流重新分配或清除,或者例如通过蛋白水解降解。如本文所述,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽展现在人类中的7天的血清半衰期。

[0090] 如本文所用,术语“代谢疾病”是指与受试者的代谢相关的疾病、病症或综合征,诸如分解食物中的碳水化合物、蛋白和脂肪以释放能量,以及将化学物质转化为其他物质和在细胞内运输它们以进行能量利用和/或储存。代谢疾病的一些症状包括高血清甘油三酯,高低密度胆固醇(LDL),低高密度胆固醇(HDL)和/或高空腹胰岛素水平,空腹血液葡萄糖升高,腹部(中央)肥胖和血压升高。代谢疾病增加发展其他疾病、诸如心血管疾病的风险。在本发明中,代谢疾病包括但不限于肥胖症、1型糖尿病和2型糖尿病。

[0091] 如本文所用,术语“体重增加的百分比”是指与先前时间的受试者的先前体重相比增加的体重的百分比。体重增加的百分比可以如下计算: $100 \times [(\text{后来时间的体重} - \text{先前时间的体重}) / (\text{先前时间的体重})]$

[0092] 在本发明中,将包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽、编码包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽的核酸分子或含有这种核酸的载体施用于受试者降低受试者的体重增加的百分比。

[0093] 如本文所用,术语“食物摄入的食欲”是指受试者对食物的自然欲望或需求。通过测量施用包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中

的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽之后消耗的食物量,可以监测受试者的食物摄入的食欲。在本发明中,将包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽、编码包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽的核酸分子或含有这种核酸的载体施用于受试者不影响受试者对食物摄入的食欲。

[0094] 如本文所用,术语“肥胖”是指存储在受试者的脂肪组织中的脂肪。在本发明中,将包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽、编码包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽的核酸分子或含有这种核酸的载体施用于受试者减少受试者的肥胖而不影响瘦体重。

[0095] 如本文所用,术语“瘦体重”是指身体组成的组分,其包括例如瘦体重、体脂和体液。通常通过从总体重减去体脂和体液的重量来计算瘦体重。通常,受试者的瘦体重在总体重的60%和90%之间。在本发明中,将包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽、编码包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽的核酸分子或含有这种核酸的载体施用于受试者减少受试者的肥胖(即脂肪)而不影响瘦体重。

[0096] 如本文所用,术语“附睾和肾周脂肪垫”是指附睾中和肾周围紧密堆积的脂肪细胞。在本发明中,将包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽、编码包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽的核酸分子或含有这种核酸的载体施用于受试者降低受试者的附睾和肾周脂肪垫的重量。

[0097] 如本文所用,术语“空腹胰岛素”是指受试者的胰岛素水平,而受试者持续一段时间(即12-24小时)没有任何食物摄入。空腹胰岛素水平用于诊断代谢疾病。空腹胰岛素水平也用作受试者是否处于发展代谢疾病的风险中的指标。通常,在患有1型糖尿病的受试者中,受试者的空腹胰岛素水平与健康受试者的空腹胰岛素水平相比较低。在患有胰岛素抵抗(即,2型糖尿病)的受试者中,受试者的空腹胰岛素水平与健康受试者相比比较高。在本发明中,将包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽、编码包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽的核酸分子或含有这种核酸的载体施用于受试者降低受试者的空腹胰岛素水平。

[0098] 如本文所用,术语“葡萄糖清除速率”是指葡萄糖从血液清除的速率。可以在葡萄糖耐量测试(GTT)中测量葡萄糖清除速率。在GTT中,给予受试者特定量的葡萄糖,且然后采集血液样品以测定其如何快速地从血液清除。葡萄糖清除速率可以用作诊断和/或确定发展代谢疾病(诸如肥胖症、糖尿病和胰岛素抵抗)的风险的参数。

[0099] 如本文所用,术语“血清脂质概况”是指受试者的血清中不同类型的脂质和脂蛋白的分布的测量。这种测量可以通过一组血液测试来完成。受试者的血清中脂质和脂蛋白的

类型包括但不限于胆固醇(例如,高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL))、甘油三酯和游离脂肪酸(FFA)。不同类型的脂质和脂蛋白的分布可以用作诊断和/或确定发展代谢疾病(诸如肥胖症、糖尿病和胰岛素抵抗)的风险的参数。高水平的胆固醇,尤其是低密度脂蛋白,通常被认为是发展某些代谢疾病,或在一些严重医疗病例中,心血管疾病的迹象或危险因素。在本发明中,将包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽、编码包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽的核酸分子或含有这种核酸的载体施用于受试者改善受试者的血清脂质概况,使得降低胆固醇(特别是低密度脂蛋白)和甘油三酯的水平。

[0100] 如本文所用,术语“亲和力”或“结合亲和力”是指两个分子之间的结合相互作用的强度。通常,结合亲和力是指分子和其结合配偶体(诸如细胞外ActRIIa变体和BMP9或激活素A)之间的非共价相互作用的总和的强度。除非另有说明,否则结合亲和力是指内在结合亲和力,其反映结合对的成员之间的1:1相互作用。两个分子之间的结合亲和力通常通过解离常数(K_D)或亲和常数(K_A)来描述。两个对彼此具有低结合亲和力的分子通常缓慢结合,倾向于容易解离,并且表现出大的 K_D 。两个对彼此具有高亲和力的分子通常容易结合,倾向于保持更长的结合,并且表现出小的 K_D 。可以使用本领域中众所周知的方法和技术,例如表面等离子体共振,确定两个相互作用分子的 K_D 。 K_D 计算为 k_{off}/k_{on} 的比率。

[0101] 如本文所用,术语“肌肉质量”是指身体组成的组分。通常通过从总体重减去体脂和体液的重量来计算肌肉质量。取决于受试者的基因构成、年龄、种族和健康状况等,肌肉质量的百分比可以在个体间变化很大。通常,受试者的肌肉质量可以是总体重的20%至50%。

[0102] 如本文所用,短语“影响肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导”是指改变肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9与其受体、例如ActRIIa、ActRIIb和BMPRII(例如,ActRIIa)的结合。在一些实施方案中,包括本文所述的细胞外ActRIIa变体的多肽减少或抑制肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9与其受体、例如ActRIIa、ActRIIb和BMPRII(例如,ActRIIa)的结合。如本文所述,本发明的包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽可以具有对BMP9的弱结合亲和力(例如,200pM或更高的 K_D)。

[0103] 如本文所用,术语“血管并发症”是指血管病症或对血管的任何损伤,诸如对血管壁的损伤。对血管壁的损伤可以引起血管通透性或渗漏的增加。术语“血管通透性或渗漏”是指血管壁允许小分子、蛋白和细胞流入和流出血管的能力。血管通透性或渗漏的增加可能由内衬血管壁的内皮细胞之间的间隙增加(例如,间隙的大小和/或数量的增加)和/或血管壁变薄引起。

[0104] 如本文所用,术语“多肽”描述单一聚合物,其中单体是通过酰胺键共价缀合在一起的氨基酸残基。多肽旨在涵盖天然存在的、重组的或合成产生的任何氨基酸序列。

[0105] 如本文所用,术语“同二聚体”是指由两个相同的大分子(诸如蛋白或核酸)形成的分子构建体。两个相同的单体可以通过共价键或非共价键形成同二聚体。例如,如果两个Fc结构域单体含有相同的序列,则Fc结构域可以是两个Fc结构域单体的同二聚体。在另一个实例中,本文所述的包含与Fc结构域单体融合的细胞外ActRIIa变体的多肽可以通过两个

Fc结构域单体的相互作用形成同二聚体,所述Fc结构域单体在同二聚体中形成Fc结构域。

[0106] 如本文所用,术语“异二聚体”是指由两个不同的大分子(诸如蛋白或核酸)形成的分子构建体。两个单体可以通过共价键或非共价键形成异二聚体。例如,本文所述的包含与Fc结构域单体融合的细胞外ActRIIa变体的多肽可以通过两个Fc结构域单体(其各自与不同的ActRIIa变体融合)的相互作用形成异二聚体,所述Fc结构域单体在异二聚体中形成Fc结构域。

[0107] 如本文所用,术语“宿主细胞”是指包含从其相应核酸表达蛋白所需的必需细胞组分(例如细胞器)的媒介物。核酸通常包括在核酸载体中,所述核酸载体可以通过本领域中已知的常规技术(转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀、直接显微注射等)引入宿主细胞中。宿主细胞可以是原核细胞,例如细菌细胞,或真核细胞,例如哺乳动物细胞(例如CHO细胞或HEK293细胞)。

[0108] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指本发明的多肽、核酸或载体或含有本发明的多肽、核酸或载体的药物组合物在治疗患者中有效地实现期望的治疗效果的量,所述患者具有疾病,例如肌肉疾病,或涉及肌肉的无力和萎缩的疾病或病况,例如,Duchenne肌营养不良症(DMD)、面肩肱型肌营养不良症(FSHD)、包涵体肌炎(IBM)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、肌肉减少症或癌症恶病质。术语“治疗有效量”还指本发明的多肽、核酸或载体或含有本发明的多肽、核酸或载体的药物组合物在治疗患者中有效地实现期望的治疗效果的量,所述患者具有疾病,例如代谢疾病,或涉及体重过量、体脂过量、高血液葡萄糖、高空腹胰岛素水平或胰岛素抵抗的病况,例如肥胖症、1型糖尿病或2型糖尿病。具体而言,治疗有效量的多肽、核酸或载体避免了不良副作用。

[0109] 如本文所用,术语“药物组合物”是指包含活性成分以及使得活性成分能够适合于施用方法的赋形剂和稀释剂的医药或药物制剂。本发明的药物组合物包含与所述多肽、核酸或载体相容的药学上可接受的组分。药物组合物可以呈用于口服施用的片剂或胶囊形式,或者呈用于静脉内或皮下施用的水性形式。

[0110] 如本文所用,术语“药学上可接受的载体或赋形剂”是指药物组合物中的赋形剂或稀释剂。药学上可接受的载体必须与制剂的其他成分相容并且对受体无害。在本发明中,药学上可接受的载体或赋形剂必须为包含细胞外ActRIIa变体的多肽、编码所述多肽的核酸分子或含有这种核酸分子的载体提供足够的药物稳定性。载体或赋形剂的性质随着施用模式而不同。例如,对于静脉内施用,通常使用水溶液载体;对于口服施用,优选固体载体。

[0111] 如本文所用,术语“治疗和/或预防”是指使用本发明的方法和组合物治疗和/或预防疾病,例如代谢疾病(例如,肥胖症、1型和2型糖尿病)或肌肉疾病(例如,DMD、FSHD、IBM和ALS)。通常,治疗代谢或肌肉疾病发生在受试者已经发展代谢或肌肉疾病和/或已经被诊断具有代谢或肌肉疾病之后。预防代谢或肌肉疾病是指当受试者处于发展代谢或肌肉疾病的风险中时采取的步骤或程序。受试者可能显示由医生判断为发展代谢或肌肉疾病的迹象或危险因素的体征或轻微症状,或者具有发展代谢或肌肉疾病的家族史或遗传倾向,但尚未发病。

[0112] 如本文所用,术语“受试者”是指哺乳动物,例如优选人。哺乳动物包括但不限于人类和家畜和农场动物,诸如猴(例如,食蟹猴),小鼠,狗,猫,马和牛等。

[0113] 附图描述

[0114] 图1是显示细胞外ActRIIa和ActRIIb的野生型序列和ActRIIa变体中的氨基酸取代的序列比对。

[0115] 图2A和2B是显示细胞外ActRIIa变体对体重的影响的散点图。小鼠接受编码所示ActRIIa变体或对照质粒的质粒构建体的单次流体动力学注射。

[0116] 图3A和3B是显示细胞外ActRIIa变体对肌肉质量的影响的柱状图。

[0117] 图4A是显示细胞外ActRIIa变体对体重的影响的散点图。小鼠每周两次接受所示纯化的重组ActRIIa变体或媒介物对照的腹膜内注射,持续四周。

[0118] 图4B是显示通过组织分析的细胞外ActRIIa变体对个体肌肉重量的影响的柱状图。

[0119] 图5A是显示在研究过程期间细胞外ActRIIa变体对体重的影响的散点图。小鼠接受编码所示ActRIIa变体或对照质粒的质粒构建体的单次流体动力学注射。

[0120] 图5B是显示在28天结束时细胞外ActRIIa变体对体重的影响的柱状图。

[0121] 图6A和6B是显示通过组织分析的细胞外ActRIIa变体对体重的影响的柱状图。

[0122] 图7A和7B是显示不同剂量的细胞外ActRIIa变体对体重的影响的散点图。小鼠每周两次接受所示纯化的重组ActRIIa变体或媒介物对照的腹膜内注射,持续四周。

[0123] 图8A和8B是显示不同剂量的细胞外ActRIIa变体对肌肉质量(图8A)和脂肪质量(图8B)的影响的柱状图。

[0124] 图9A和9B是显示通过组织分析的不同剂量的细胞外ActRIIa变体对肌肉重量的影响的柱状图。

[0125] 发明详述

[0126] 本发明的特征在于包含细胞外激活素受体IIa型(ActRIIa)变体的多肽。在一些实施方案中,本发明的多肽包含与部分(例如,Fc结构域单体,野生型Fc结构域,具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽,纤连蛋白结构域或人血清白蛋白)融合的细胞外ActRIIa变体。包含与Fc结构域单体融合的细胞外ActRIIa变体的多肽也可以通过两个Fc结构域单体之间的相互作用形成二聚体(例如,同二聚体或异二聚体)。与激活素和肌肉生长抑制素相比,本文所述的ActRIIa变体对骨形态发生蛋白9(BMP9)具有微弱结合亲和力或无结合亲和力。本发明还包括通过增加肌肉质量和强度来治疗涉及肌肉的无力和萎缩的疾病和病况的方法,治疗或预防代谢疾病的方法,或通过向受试者施用包含本文所述的细胞外ActRIIa变体的多肽来影响受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导的方法。

[0127] I. 细胞外激活素受体IIa型(ActRIIa)变体

[0128] 激活素II型受体是单跨膜结构域受体,其调节转化生长因子 β (TGF- β)超家族中的配体的信号。TGF- β 超家族中的配体参与许多生理过程,诸如肌肉生长、血管生长、细胞分化、体内平衡和成骨作用。TGF- β 超家族中的配体的实例包括,例如,激活素、抑制素、生长分化因子(GDF)(例如,GDF8,也称为肌肉生长抑制素)和骨形态发生蛋白(BMP)(例如,BMP9)。已知肌肉生长抑制素和激活素在骨骼肌生长的调节中发挥作用。例如,没有肌肉生长抑制素的小鼠显示骨骼肌质量的大量增加。

[0129] 激活素在脂肪组织中也高度表达,并且在肥胖小鼠的皮下和内脏脂肪中已观察到肌肉生长抑制素水平和激活素受体水平增加。另外,已显示肌肉生长抑制素在肥胖和胰岛

素抵抗的雌性的骨骼肌和血浆中升高,并且I型和II型激活素受体均与胰腺功能和糖尿病关联。这些数据表明,由于激活素配体(例如,激活素、肌肉生长抑制素)的表达增加或激活素受体本身的表达增加的激活素受体信号传导增加,可能导致肥胖症和代谢病症,诸如1型和2型糖尿病。因此,减少或抑制该信号传导的方法可用于治疗肥胖症和代谢病症。

[0130] 存在两种类型的激活素II型受体:ActRIIa和ActRIIb。研究已显示,BMP9结合ActRIIb,其结合亲和力比ActRIIa高约300倍(参见,例如,Townson等人,J.Biol.Chem.287:27313,2012)。已知ActRIIa与ActRIIb相比具有更长的半衰期。本发明描述了通过将ActRIIb的氨基酸残基引入ActRIIa而构建的细胞外ActRIIa变体,其目的是赋予ActRIIb所赋予的生理学特性,同时还维持ActRIIa的有益生理学和药代动力学特性。例如,最佳肽赋予肌肉质量的显著增加,同时维持更长的血清半衰期和对BMP9的低结合亲和力。优选的ActRIIa变体还表现出与野生型ActRIIa相比改善的与激活素和/或肌肉生长抑制素的结合,其允许它们与内源性激活素受体竞争配体结合并减少或抑制内源性激活素受体信号传导。这些变体可用于治疗其中激活素受体信号传导升高的病症,诸如代谢病症,导致体脂、体重或胰岛素抵抗降低(例如,胰岛素敏感性增加)。在一些实施方案中,可以将氨基酸取代引入细胞外ActRIIa变体以降低或去除所述变体与BMP9的结合亲和力。人ActRIIa和ActRIIb的细胞外部分的野生型氨基酸序列如下所示。

[0131] 人ActRIIa,细胞外部分(SEQ ID NO:73):

[0132] GAiLGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0133] 人ActRIIb,细胞外部分(SEQ ID NO:74):

[0134] GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGWLDNFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNE RFTHLPEAGGPEVTYEPPTAPT.

[0135] 本文所述的多肽包含相对于具有SEQ ID NO:73的序列的野生型细胞外ActRIIa或具有SEQ ID NO:76-96的序列中的任一个的细胞外ActRIIa具有至少一个氨基酸取代的细胞外ActRIIa变体。可以将27个不同位置处的可能的氨基酸取代引入细胞外ActRIIa变体(表1)。在一些实施方案中,细胞外ActRIIa变体可以与野生型细胞外ActRIIa(SEQ ID NO:73)的序列具有至少85%(例如,至少85%、87%、90%、92%、95%、97%或更高)氨基酸序列同一性。细胞外ActRIIa变体可以相对于野生型细胞外ActRIIa(SEQ ID NO:73)的序列具有一个或多个(例如,1-27、1-25、1-23、1-21、1-19、1-17、1-15、1-13、1-11、1-9、1-7、1-5、1-3或1-2;例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26或27个)氨基酸取代。在一些实施方案中,细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1的序列的细胞外ActRIIa变体)可以包含如表1中所列的所有27个位置处的氨基酸取代。在一些实施方案中,细胞外ActRIIa变体可以包含在许多位置处、例如在如表1中所列的27个位置中的2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24或26个处的氨基酸取代。

[0136] 氨基酸取代可以恶化或改善本发明的ActRIIa变体的活性和/或结合亲和力。为了维持多肽功能,重要的是保留表1和2中所示的序列(SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72))中的位置X₁₇处的赖氨酸(K)。在该位置处的取代可以导致活性的丧失。例如,具有序列GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIVAKGCWLDDNFNCYDRDTCVETEENPQVYFCCCEGNMC;NEKFSYFPEMEVTQPTS(SEQ ID NO:150)的ActRIIa变体具有降低的体内

活性,表明不能耐受丙氨酸(A)取代位置X₁₇处的赖氨酸(K)。因此,本发明的ActRIIa变体,包括表1和2中的变体(例如,SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72))在位置X₁₇处保留氨基酸K。

[0137] 本发明的ActRIIa变体与BMP9的结合优选减少、微弱或实质上不结合。在含有位置X₂₃、X₂₄、X₂₅和X₂₆处的氨基酸序列TEEN的ActRIIa变体中,以及维持位置X₂₄处的氨基酸K且具有位置X₂₃、X₂₄、X₂₅和X₂₆处的氨基酸序列TKEN的变体中,BMP9结合减少。序列TEEN和TKEN可以在本发明的ActRIIa变体(例如,表1和2中的变体,例如,SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72))中可互换使用以提供减少的BMP9结合。

[0138] 本发明的ActRIIa变体可以进一步包含C-末端延伸(例如,C-末端的额外氨基酸)。C-末端延伸可以向表1和2中所示的任何变体(例如,SEQ ID NO:1-70(例如,SEQ ID NO:6-70))添加在C-末端的一至六个额外氨基酸(例如,1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸)。可以在本发明的ActRIIa变体中包含的一种潜在的C-末端延伸是氨基酸序列NP。例如,包含C-末端延伸的序列是SEQ ID NO:71(例如,具有NP的C-末端延伸的SEQ ID NO:69)。可以在本发明的ActRIIa变体中包含的另一种示例性C-末端延伸是氨基酸序列NPVTPK(SEQ ID NO:155)。例如,包含C-末端延伸的序列是SEQ ID NO:72(例如,具有NPVTPK的C-末端延伸的SEQ ID NO:69)。

[0139] 表1.具有SEQ ID NO:1-5中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体中的氨基酸取代

[0140]

GAILGRSETQECLX ₁ X ₂ NANWX ₃ X ₄ X ₅ X ₆ TNQTGVEX ₇ CX ₈ GX ₉ X ₁₀ X ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ HCX ₁₅ ATWX ₁₆ NISGSIEIVX ₁₇ X ₁₈ GCX ₁₉ X ₂₀ X ₂₁ DX ₂₂ NCYDRTDCVEX ₂₃ X ₂₄ X ₂₅ X ₂₆ PX ₂₇ VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 1)			
GAILGRSETQECLFX ₂ NANWX ₃ X ₄ X ₅ X ₆ TNQTGVEX ₇ CX ₈ GX ₉ KX ₁₁ X ₁₂ X ₁₃ X ₁₄ HCX ₁₅ ATWX ₁₆ NISGSIEIVX ₁₇ X ₁₈ GCX ₁₉ X ₂₀ X ₂₁ DX ₂₂ NCYDRTDCVEX ₂₃ X ₂₄ X ₂₅ X ₂₆ PX ₂₇ VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 2)			
GAILGRSETQECLFX ₂ NANWEX ₄ X ₅ RTNQTGVEX ₇ CX ₈ GX ₉ KDKRX ₁₄ HCX ₁₅ ATWX ₁₆ NISGSIEIVKX ₁₈ GCWLDDX ₂₂ NCYDRTDCVEX ₂₃ X ₂₄ X ₂₅ X ₂₆ PX ₂₇ VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 3)			
GAILGRSETQECLFX ₂ NANWEX ₄ DRTNQTGVEX ₇ CX ₈ GX ₉ KDKRX ₁₄ HCX ₁₅ ATWX ₁₆ NISGSIEIVKX ₁₈ GCWLDDX ₂₂ NCYDRTDCVEX ₂₃ KX ₂₅ X ₂₆ PX ₂₇ VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 4)			
GAILGRSETQECLFX ₂ NANWEX ₄ DRTNQTGVPCX ₈ GX ₉ KDKRX ₁₄ HCFATWKNISGSIEIVKX ₁₅ GCWLDDI NCYDRTDCVEX ₂₃ KX ₂₅ X ₂₆ PX ₂₇ VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 5)			
X ₁	F 或 Y	X ₁₅	F 或 Y
X ₂	F 或 Y	X ₁₆	K, R, 或 A
X ₃	E 或 A	X ₁₇	K, A, Y, F, 或 I
X ₄	K 或 L	X ₁₈	Q 或 K
X ₅	D 或 E	X ₁₉	W 或 A
X ₆	R 或 A	X ₂₀	L 或 A
X ₇	P 或 R	X ₂₁	D, K, R, A, F, G, M, N, 或 I
X ₈	Y 或 E	X ₂₂	I, F, 或 A
X ₉	D 或 E	X ₂₃	K 或 T
X ₁₀	K 或 Q	X ₂₄	K 或 E
X ₁₁	D 或 A	X ₂₅	D 或 E
X ₁₂	K 或 A	X ₂₆	S 或 N
X ₁₃	R 或 A	X ₂₇	E 或 Q
X ₁₄	R 或 L		

[0141] 在具有SEQ ID NO:2的序列的细胞外ActRIIa变体的一些实施方案中,X₃是E,X₆是R,X₁₁是D,X₁₂是K,X₁₃是R,X₁₆是K或R,X₁₇是K,X₁₉是W,X₂₀是L,X₂₁是D,且X₂₂是I或F。在具有SEQ ID NO:1或2的序列的细胞外ActRIIa变体的一些实施方案中,X₁₇是K。在具有SEQ ID NO:1-3的序列的细胞外ActRIIa变体的一些实施方案中,X₁₇是K,X₂₃是T,X₂₄是E,X₂₅是E,且X₂₆是N。在具有SEQ ID NO:1-5中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体的一些实施方案中,X₁₇是K,X₂₃是T,X₂₄是K,X₂₅是E,且X₂₆是N。

[0142] 在一些实施方案中,本文所述的多肽包含具有SEQ ID NO:6-72中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体(表2)。

[0143] 表2.具有SEQ ID NO:6-72的序列的细胞外ActR1la变体

SEQ ID NO	氨基酸序列
6	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
7	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
8	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
9	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
10	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
11	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
12	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
13	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
14	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
15	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
16	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
17	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0144]

[0145]

SEQ ID NO	氨基酸序列
18	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
19	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
20	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
21	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
22	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
23	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
24	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
25	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
26	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
27	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
28	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
29	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
30	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
31	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
32	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
33	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
34	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0146]

SEQ ID NO	氨基酸序列
35	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVPECEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
36	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVPECEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
37	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVPECEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
38	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
39	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
40	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
41	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
42	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
43	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGC WLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
44	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVPECEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
45	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVPECEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
46	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVPECEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
47	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNQTGVPECEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
48	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
49	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
50	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
51	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0147]

SEQ ID NO	氨基酸序列
52	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
53	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
54	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
55	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
56	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVEPCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
57	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
58	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
59	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
60	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
61	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
62	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNOTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
63	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
64	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
65	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
66	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
67	GAILGRSETQECLFYNNANWELDRNTNOTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
68	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNOTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKG CWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0148]

SEQ ID NO	氨基酸序列
69	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVQTPTS
70	GAILGRSETQECLYYNANWELERTNQTGVERCEGEQDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVQTPTS
71	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVQTPTSN P
72	GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNICYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVQTPTSN PVTPK

[0149] 在一些实施方案中,包含细胞外ActRIIa变体(例如,SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个)的本发明的多肽具有位置 X_{17} 处的氨基酸K。改变位置 X_{17} 处的氨基酸可以导致活性降低。例如,具有序列

[0150] GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIVAKGCWLDDFNICYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVQTPTS (SEQ ID NO:150)的ActRIIa变体具有降低的体内活性,表明不能耐受A取代位置 X_{17} 处的K。

[0151] 在一些实施方案中,包含具有位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的序列TEEN的细胞外ActRIIa变体(例如,SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个)的本发明的多肽可以用氨基酸K取代位置 X_{24} 处的氨基酸E。在一些实施方案中,包含具有位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的序列TKEN的细胞外ActRIIa变体(例如,SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个)的本发明的多肽可以用氨基酸E取代位置 X_{24} 处的氨基酸K。具有位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处的序列TEEN或TKEN的多肽具有降低或微弱的与BMP9的结合。

[0152] 在一些实施方案中,包含细胞外ActRIIa变体(例如,SEQ ID NO:1-70(例如,SEQ ID NO:6-70)中的任一个)的本发明的多肽可以进一步包含C-末端延伸(例如,C-末端的额外氨基酸)。在一些实施方案中,所述C-末端延伸是氨基酸序列NP。例如,包含C-末端延伸的序列是SEQ ID NO:71(例如,具有NP的C-末端延伸的SEQ ID NO:69)。在一些实施方案中,所述C-末端延伸是氨基酸序列NPVTPK (SEQ ID NO:155)。例如,包含C-末端延伸的序列是SEQ ID NO:72(例如,具有NPVTPK的C-末端延伸的SEQ ID NO:69)。C-末端延伸可以在C-末端添加一至六个额外氨基酸(例如,1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸)。

[0153] 在一些实施方案中,包含细胞外ActRIIa变体的本发明的多肽可以进一步包含部分(例如,Fc结构域单体,野生型Fc结构域,具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽,纤连蛋白结构域或人血清白蛋白),其可以通过接头或其他共价键的方式与细胞外ActRIIa变体的N-或C-末端(例如,C-末端)融合。包含与Fc结构域单体融合的细胞外ActRIIa变体的多肽可以通过两个Fc结构域单体之间的相互作用形成二聚体(例如,同二聚体或异二聚体),所述两个Fc结构域单体组合以在二聚体中形成Fc结构域。

[0154] 在一些实施方案中,本文所述的细胞外ActRIIa变体不具有下表3中所示的SEQ ID NO:76-96中的任一个的序列。

[0155] 表3.排除的细胞外ActRIIa变体。

SEQ ID NO	氨基酸序列
76	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWANISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
77	GAILGRSETQECLFFNANWAKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
78	GAILGRSETQECLFFNANWEKDATNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
79	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKAKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
80	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKARRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
81	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKARRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
82	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV AQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
83	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV YQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
84	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV FQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
85	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV QGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
86	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCALDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
87	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWADDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
88	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLKDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
89	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLRDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0156]

[0157]

SEQ ID NO	氨基酸序列
90	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLADINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
91	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLFIDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
92	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLGDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
93	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLMDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
94	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLNDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
95	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLIDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
96	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDANCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0158] 此外,在一些实施方案中,本文所述的多肽在人类中具有至少7天的血清半衰期。所述多肽可以以200pM或更高的 K_D 结合骨形态发生蛋白9 (BMP9)。所述多肽可以以10pM或更高的 K_D 结合激活素A。在一些实施方案中,所述多肽不结合BMP9或激活素A。在一些实施方案中,所述多肽结合激活素和/或肌肉生长抑制素且表现出与BMP9的结合减少(例如,微弱)。在一些实施方案中,与BMP9的结合降低或微弱的多肽在位置 X_{23} 、 X_{24} 、 X_{25} 和 X_{26} 处具有序列TEEN或TKEN。

[0159] 另外,在一些实施方案中,所述多肽可以以约200pM或更高的 K_D (例如,约200、300、400、500、600、700、800或900pM或更高的 K_D ,例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40或50nM或更高的 K_D ,例如,约200pM至约50nM的 K_D)结合人BMP9。在一些实施方案中,所述多肽实质上不结合人BMP9。在一些实施方案中,所述多肽可以以约800pM或更低的 K_D (例如,约800、700、600、500、400、300、200、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1pM或更低的 K_D ,例如,约800pM至约200pM的 K_D)结合人激活素A。在一些实施方案中,所述多肽可以以约800pM或更低的 K_D (例如,约800、700、600、500、400、300、200、100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、9、8、7、6、5、4、3、2或1pM或更低的 K_D ,例如,约800pM至约200pM的 K_D)结合人激活素B。所述多肽也可以以约5pM或更高的 K_D (例如,约5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、105、110、115、120、125、130、135、140、145、150、155、160、165、170、175、180、185、190、195或200pM或更高的 K_D)结合生长和分化因子11 (GDF-11)。

[0160] II.Fc结构域

[0161] 在一些实施方案中,本文所述的多肽可以包含与免疫球蛋白的Fc结构域单体或Fc结构域的片段融合以增加多肽的血清半衰期的细胞外ActRIIa变体。包含与Fc结构域单体融合的细胞外ActRIIa变体的多肽可以通过两个Fc结构域单体之间的相互作用形成二聚体(例如,同二聚体或异二聚体),所述两个Fc结构域单体在二聚体中形成Fc结构域。如本领域常规已知,Fc结构域是在免疫球蛋白的C-末端发现的蛋白结构。Fc结构域包含两个Fc结构域单体,其通过 C_H3 抗体恒定结构域之间的相互作用而二聚化。野生型Fc结构域形成结合Fc

受体的最小结构,例如Fc γ RI、Fc γ RIIa、Fc γ RIIb、Fc γ RIIIa、Fc γ RIIIb、Fc γ RIV。在一些实施方案中,可以突变Fc结构域以缺乏效应子功能,这是典型的“死亡”Fc结构域。例如,Fc结构域可以包含已知使Fc结构域和Fc γ 受体之间的相互作用最小化的特定氨基酸取代。在一些实施方案中,Fc结构域来自IgG1抗体并且包含氨基酸取代L234A、L235A和G237A。在一些实施方案中,Fc结构域来自IgG1抗体并且包含氨基酸取代D265A、K322A和N434A。上述氨基酸位置根据Kabat (Sequences of Proteins of Immunological Interest,第5版 Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)) 定义。通过在抗体序列的同源性区域与“标准”Kabat编号序列比对,可以确定给定抗体的氨基酸残基的Kabat编号。此外,在一些实施方案中,Fc结构域不诱导任何免疫系统相关的应答。例如,可以修饰包含与Fc结构域单体融合的细胞外ActRIIa变体的多肽的二聚体中的Fc结构域,以减少Fc结构域和Fc γ 受体之间的相互作用或结合。可以与细胞外ActRIIa变体融合的Fc结构域单体的序列如下所示 (SEQ ID NO:97) :

[0162] THTCPGPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK
PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPPIEKTKAKGGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT
CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLQSDGPPFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSHEALHNHYTQKSLS
LSPGK。

[0163] 在一些实施方案中,Fc结构域来自IgG1抗体且相对于SEQ ID NO:97的序列包含氨基酸取代L12A、L13A和G15A。在一些实施方案中,Fc结构域来自IgG1抗体且相对于SEQ ID NO:97的序列包含氨基酸取代D43A、K100A和N212A。在一些实施方案中,本文所述的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体))可以通过常规遗传或化学方式、例如化学缀合,与Fc结构域单体(例如,SEQ ID NO:97)的N-或C-末端融合。如果期望,可以在细胞外ActRIIa变体和Fc结构域单体之间插入接头(例如,间隔区)。Fc结构域单体可以与细胞外ActRIIa变体的N-或C-末端(例如,C-末端)融合。

[0164] 在一些实施方案中,本文所述的多肽可以包含与Fc结构域融合的细胞外ActRIIa变体。在一些实施方案中,所述Fc结构域含有一个或多个减少或抑制Fc结构域二聚化的氨基酸取代。在一些实施方案中,所述Fc结构域含有铰链结构域。所述Fc结构域可以是免疫球蛋白抗体同种型IgG、IgE、IgM、IgA或IgD的Fc结构域。另外,所述Fc结构域可以是IgG亚型(例如,IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3或IgG4)。所述Fc结构域也可以是非天然存在的Fc结构域,例如重组Fc结构域。

[0165] 工程改造具有减少的二聚化的Fc结构域的方法是本领域中已知的。在一些实施方案中,可以将一个或多个具有大侧链的氨基酸(例如,酪氨酸或色氨酸)引入C_H3-C_H3二聚体界面以由于空间碰撞而阻碍二聚体形成。在其他实施方案中,可以将一个或多个具有小侧链的氨基酸(例如,丙氨酸、缬氨酸或苏氨酸)引入C_H3-C_H3二聚体界面以除去有利的相互作用。在C_H3结构域中引入具有大或小侧链的氨基酸的方法描述于例如Ying等人(J Biol Chem.287:19399-19408,2012),美国专利公开号2006/0074225,美国专利号8,216,805和5,731,168,Ridgway等人(Protein Eng.9:617-612,1996),Atwell等人(J Mol Biol.270:26-35,1997),和Merchant等人(Nat Biotechnol.16:677-681,1998),其全部都通过引用以其整体并入本文。

[0166] 在还有其他实施方案中,构成两个Fc结构域之间的 C_H3-C_H3 界面的 C_H3 结构域中的一个或多个氨基酸残基用带正电荷的氨基酸残基(例如,赖氨酸、精氨酸或组氨酸)或带负电荷的氨基酸残基(例如,天冬氨酸或谷氨酸)替代,使得相互作用变得静电不利,这取决于引入的特定带电荷的氨基酸。在 C_H3 结构域中引入带电荷的氨基酸以不利于或阻止二聚体形成的方法描述于例如Ying等人(J Biol Chem.287:19399-19408,2012),美国专利公开号2006/0074225,2012/0244578和2014/0024111,其全部都通过引用以其整体并入本文。

[0167] 在本发明的一些实施方案中,相对于人IgG1的序列,Fc结构域包含以下氨基酸取代中的一个或多个:T366W、T366Y、T394W、F405W、Y349T、Y349E、Y349V、L351T、L351H、L351N、L352K、P353S、S354D、D356K、D356R、D356S、E357K、E357R、E357Q、S364A、T366E、L368T、L368Y、L368E、K370E、K370D、K370Q、K392E、K392D、T394N、P395N、P396T、V397T、V397Q、L398T、D399K、D399R、D399N、F405T、F405H、F405R、Y407T、Y407H、Y407I、K409E、K409D、K409T和K409I。在一个具体实施方案中,相对于人IgG1的序列,Fc结构域包含氨基酸取代T366W。野生型Fc结构域的序列显示于SEQ ID NO:151中。

[0168] III. 白蛋白结合肽

[0169] 在一些实施方案中,本文所述的多肽可以包含与血清蛋白结合肽融合的细胞外ActRIIa变体。与血清蛋白肽的结合可以改善蛋白药物的药代动力学。

[0170] 作为一个实例,可用于本文所述的方法和组合物中的白蛋白结合肽通常是本领域中已知的。在一个实施方案中,所述白蛋白结合肽包含序列DICLPWGLW(SEQ ID NO:152)。

[0171] 在本发明中,白蛋白结合肽可以连接至本文所述的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的N-或C-末端(例如,C-末端)以增加细胞外ActRIIa变体的血清半衰期。在一些实施方案中,白蛋白结合肽直接或通过接头连接至细胞外ActRIIa变体的N-或C-末端。

[0172] 在一些实施方案中,本文所述的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)可以通过常规遗传或化学方式、例如化学缀合,与白蛋白结合肽(例如,SEQ ID NO:152)的N-或C-末端融合。如果期望,可以在细胞外ActRIIa变体和白蛋白结合肽之间插入接头(例如,间隔区)。不受理论束缚,预期在本文所述的细胞外ActRIIa变体中包含白蛋白结合肽可以通过其与血清白蛋白的结合而导致治疗性蛋白的延长保留。

[0173] IV. 纤连蛋白结构域

[0174] 在一些实施方案中,本文所述的多肽可以包含与纤连蛋白结构域融合的细胞外ActRIIa变体。与纤连蛋白结构域的结合可以改善蛋白药物的药代动力学。

[0175] 纤连蛋白结构域是细胞外基质的高分子量糖蛋白或其片段,其结合例如跨膜受体蛋白诸如整联蛋白和细胞外基质组分诸如胶原蛋白和纤维蛋白。在本发明的一些实施方案中,纤连蛋白结构域连接至本文所述的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的N-或C-末端(例如,C-末端)以增加细胞外ActRIIa变体的血清半衰期。纤连蛋白结构域可以直接或通过接头连接至细胞外ActRIIa变体的N-或C-末端。

[0176] 作为一个实例,可用于本文所述的方法和组合物中的纤连蛋白结构域通常是本领域中已知的。在一个实施方案中,所述纤连蛋白结构域是具有UniProt ID NO:P02751的序

列的氨基酸610-702的纤连蛋白III型结构域(SEQ ID NO:153)。在另一个实施方案中,所述纤连蛋白结构域是adnectin蛋白。

[0177] 在一些实施方案中,本文所述的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体))可以通过常规遗传或化学方式、例如化学缀合,与纤连蛋白结构域(例如,SEQ ID NO:153)的N-或C-末端融合。如果期望,可以在细胞外ActRIIa变体和纤连蛋白结构域之间插入接头(例如,间隔区)。不受理论束缚,预期在本文所述的细胞外ActRIIa变体中包含纤连蛋白结构域可以通过其与整联蛋白和细胞外基质组分(诸如胶原蛋白和纤维蛋白)的结合而导致治疗性蛋白的延长保留。

[0178] V. 血清白蛋白

[0179] 在一些实施方案中,本文所述的多肽可以包含与血清白蛋白融合的细胞外ActRIIa变体。与血清白蛋白的结合可以改善蛋白药物的药代动力学。

[0180] 血清白蛋白是一种球状蛋白,其为哺乳动物中最丰富的血液蛋白。血清白蛋白在肝脏中产生,并且占血清蛋白的约一半。它是单体的且可溶于血液中。血清白蛋白的一些最重要的功能包括在体内运输激素、脂肪酸和其他蛋白,缓冲pH,和维持体液在血管和身体组织之间的正确分布所需的渗透压。在优选实施方案中,血清白蛋白是人血清白蛋白。在本发明的一些实施方案中,人血清白蛋白连接至本文所述的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的N-或C-末端(例如,C-末端)以增加细胞外ActRIIa变体的血清半衰期。人血清白蛋白可以直接或通过接头连接至细胞外ActRIIa变体的N-或C-末端。

[0181] 作为一个实例,可用于本文所述的方法和组合物中的血清白蛋白通常是本领域中已知的。在一个实施方案中,所述血清白蛋白包含UniProt ID NO:P02768的序列(SEQ ID NO:154)。

[0182] 在一些实施方案中,本文所述的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体))可以通过常规遗传或化学方式、例如化学缀合,与人血清白蛋白(例如,SEQ ID NO:154)的N-或C-末端融合。如果期望,可以在细胞外ActRIIa变体和人血清白蛋白之间插入接头(例如,间隔区)。不受理论束缚,预期在本文所述的细胞外ActRIIa变体中包含人血清白蛋白可以导致治疗性蛋白的延长保留。

[0183] VI. 接头

[0184] 本文所述的多肽可以包含通过接头的方式与部分融合的细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)。在一些实施方案中,所述部分增加多肽的稳定性。示例性部分包括Fc结构域单体,野生型Fc结构域,具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽,纤连蛋白结构域或人血清白蛋白。在本发明中,部分(例如,Fc结构域单体(例如,SEQ ID NO:97的序列),野生型Fc结构域(例如,SEQ ID NO:151),具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽(例如,SEQ ID NO:152),纤连蛋白结构域(例如,SEQ ID NO:153),或人血清白蛋白(例如,SEQ ID NO:154))和细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa

变体)之间的接头,可以是包括1-200个氨基酸的氨基酸间隔区。合适的肽间隔区是本领域中已知的,并且包括例如含有柔性氨基酸残基(诸如甘氨酸、丙氨酸和丝氨酸)的肽接头。在一些实施方案中,间隔区可以含有GA、GS、GG、GGA、GGS、GGG、GGGA (SEQ ID NO:98)、GGGS (SEQ ID NO:99)、GGGG (SEQ ID NO:100)、GGGGA (SEQ ID NO:101)、GGGGS (SEQ ID NO:102)、GGGGG (SEQ ID NO:103)、GGAG (SEQ ID NO:104)、GGSG (SEQ ID NO:105)、AGGG (SEQ ID NO:106)或SGGG (SEQ ID NO:107)的基序,例如多个或重复基序。在一些实施方案中,间隔区可以含有2至12个氨基酸,包括GA或GS,例如GA、GS、GAGA (SEQ ID NO:108)、GSGS (SEQ ID NO:109)、GAGAGA (SEQ ID NO:110)、GSGSGS (SEQ ID NO:111)、GAGAGAGA (SEQ ID NO:112)、GSGSGSGS (SEQ ID NO:113)、GAGAGAGAGA (SEQ ID NO:114)、GSGSGSGSGS (SEQ ID NO:115)、GAGAGAGAGAGA (SEQ ID NO:116)和GSGSGSGSGSGS (SEQ ID NO:117)的基序。在一些实施方案中,间隔区可以含有3至12个氨基酸,包括GGA或GGS,例如GGA、GGS、GGAGGA (SEQ ID NO:118)、GGSGGS (SEQ ID NO:119)、GGAGGAGGA (SEQ ID NO:120)、GGSGSGGS (SEQ ID NO:121)、GGAGGAGGAGGA (SEQ ID NO:122)和GGSGSGSGSGGS (SEQ ID NO:123)的基序。在还有一些实施方案中,间隔区可以含有4至12个氨基酸,包括GGAG (SEQ ID NO:104)、GGSG (SEQ ID NO:105),例如,GGAG (SEQ ID NO:104)、GGSG (SEQ ID NO:105)、GGAGGGAG (SEQ ID NO:124)、GGSGGGSG (SEQ ID NO:125)、GGAGGGAGGGAG (SEQ ID NO:126)和GGSGGGSGGGSG (SEQ ID NO:127)的基序。在一些实施方案中,间隔区可以含有GGGGA (SEQ ID NO:101)或GGGGS (SEQ ID NO:102),例如,GGGGAGGGGAGGGGA (SEQ ID NO:128)和GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO:129)的基序。在本发明的一些实施方案中,部分(例如,Fc结构域单体,野生型Fc结构域,具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域,白蛋白结合肽,纤连蛋白结构域,或人血清白蛋白)和细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)之间的接头可以是GGG、GGGA (SEQ ID NO:98)、GGGG (SEQ ID NO:100)、GGGAG (SEQ ID NO:130)、GGGAGG (SEQ ID NO:131)或GGGAGGG (SEQ ID NO:132)。

[0185] 在一些实施方案中,间隔区还可以含有除了甘氨酸、丙氨酸和丝氨酸以外的氨基酸,例如AAAL (SEQ ID NO:133)、AAAK (SEQ ID NO:134)、AAAR (SEQ ID NO:135)、EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO:136)、GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO:137)、AEAAAKEAAKA (SEQ ID NO:138)、KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO:139)、GENLYFQSGG (SEQ ID NO:140)、SACYCELS (SEQ ID NO:141)、RSIAT (SEQ ID NO:142)、RPACKIPNDLKQKVMNH (SEQ ID NO:143)、GGSAGGSGSGSSGSSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (SEQ ID NO:144)、AAANSSIDLISVPVDSR (SEQ ID NO:145)或GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS (SEQ ID NO:146)。在一些实施方案中,间隔区可以含有EAAAK (SEQ ID NO:147)的基序,例如多个或重复基序。在一些实施方案中,间隔区可以含有富含脯氨酸的序列(诸如 $(XP)_n$)的基序,例如多个或重复基序,其中X可以是任何氨基酸(例如,A、K或E)且n为1-5,和PAPAP (SEQ ID NO:148)。

[0186] 肽间隔区的长度和使用的氨基酸可以根据所涉及的两种蛋白和最终蛋白融合多肽中期望的柔性程度进行调节。可以调节间隔区的长度以确保适当的蛋白折叠并避免聚集体形成。

[0187] VII. 载体、宿主细胞和蛋白产生本发明的多肽可以从宿主细胞产生。宿主细胞是指包含从其相应的核酸表达本文所述的多肽和融合多肽所需的必需细胞组分(例如,细胞

器)的媒介物。核酸可以包括在核酸载体中,所述核酸载体可以通过本领域中已知的常规技术(例如,转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀、直接显微注射、注射等)引入宿主细胞中。核酸载体的选择部分取决于待使用的宿主细胞。通常,优选的宿主细胞是真核生物(例如,哺乳动物)或原核生物(例如,细菌)来源的。

[0188] 核酸载体构建和宿主细胞

[0189] 编码本发明的多肽的氨基酸序列的核酸序列可以通过本领域中已知的各种方法制备。这些方法包括但不限于寡核苷酸介导的(或定点的)诱变和PCR诱变。编码本发明的多肽的核酸分子可以使用标准技术(例如,基因合成)获得。或者,可以使用本领域中的标准技术(例如,QuikChangeTM诱变)突变编码野生型细胞外ActRIIa的核酸分子以包括特定氨基酸取代。可以使用核苷酸合成仪或PCR技术合成核酸分子。

[0190] 可以将编码本发明的多肽的核酸序列插入能够在原核或真核宿主细胞中复制和表达核酸分子的载体中。许多载体在本领域中可得,并且可用于本发明的目的。每种载体可以包括可以针对与特定宿主细胞的相容性进行调整和优化的各种组分。例如,载体组分可以包括但不限于复制起点、选择标记基因、启动子、核糖体结合位点、信号序列、编码目标蛋白的核酸序列和转录终止序列。

[0191] 在一些实施方案中,哺乳动物细胞可用作本发明的宿主细胞。哺乳动物细胞类型的实例包括但不限于人胚肾(HEK)(例如,HEK293、HEK 293F)、中国仓鼠卵巢(CHO)、HeLa、COS、PC3、Vero、MC3T3、NS0、Sp2/0、VERY、BHK、MDCK、W138、BT483、Hs578T、HTB2、BT20、T47D、NS0(不内源性产生任何免疫球蛋白链的鼠骨髓瘤细胞系)、CRL7030和HsS78Bst细胞。在一些实施方案中,大肠杆菌细胞也可用作本发明的宿主细胞。大肠杆菌菌株的实例包括但不限于大肠杆菌294(ATCC[®] 31,446)、大肠杆菌λ1776(ATCC[®] 31,537,大肠杆菌BL21(DE3)(ATCC[®] BAA-1025),和大肠杆菌RV308(ATCC[®] 31,608)。不同宿主细胞具有转录后加工和修饰蛋白产物的特征和特定机制(例如,糖基化)。可以选择适当的细胞系或宿主系统以确保所表达的多肽的正确的修饰和加工。可以使用本领域中的常规技术(例如,转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀和直接显微注射)将上述表达载体引入适当的宿主细胞中。一旦将载体引入宿主细胞中用于蛋白生产,宿主细胞在适当改良的常规营养培养基中培养,用于诱导启动子、选择转化子或扩增编码期望序列的基因。用于表达治疗性蛋白的方法是本领域中已知的,参见,例如,Paulina Balbas,Argelia Lorence(编)Recombinant Gene Expression: Reviews and Protocols(Methods in Molecular Biology),Humana Press;第2版2004以及Vladimir Voynov和Justin A.Caravella(编)Therapeutic Proteins:Methods and Protocols(Methods in Molecular Biology)Humana Press;第2版2012。

[0192] 蛋白产生、回收和纯化

[0193] 用于产生本发明的多肽的宿主细胞可以在本领域中已知且适合于培养选择的宿主细胞的培养基中生长。用于哺乳动物宿主细胞的合适培养基的实例包括最小必需培养基(MEM)、Dulbecco氏改良的Eagle氏培养基(DMEM)、Expi293TM表达培养基、补充胎牛血清(FBS)的DMEM和RPMI-1640。用于细菌宿主细胞的合适培养基的实例包括Luria肉汤(LB)加必需的补充剂,诸如选择剂,例如氨苄青霉素。宿主细胞在合适的温度诸如约20°C至约39°C,例如25°C至约37°C,优选37°C,和CO₂水平,诸如5至10%下培养。培养基的pH通常为约

6.8至7.4,例如7.0,这主要取决于宿主生物体。如果在本发明的表达载体中使用诱导型启动子,则在适合于激活启动子的条件下诱导蛋白表达。

[0194] 在一些实施方案中,取决于使用的表达载体和宿主细胞,表达的蛋白可以从宿主细胞(例如,哺乳动物宿主细胞)分泌至细胞培养基中。蛋白回收可以涉及过滤细胞培养基以去除细胞碎片。可以进一步纯化蛋白。本发明的多肽可以通过蛋白纯化领域中已知的任何方法,例如,通过色谱法(例如,离子交换、亲和力和大小排阻柱色谱法)、离心、差异溶解度或通过用于蛋白纯化的任何其他标准技术进行纯化。例如,可以通过适当选择和组合亲和柱、诸如蛋白A柱(例如,POROS蛋白A色谱)和色谱柱(例如,POROS HS-50阳离子交换色谱)、过滤、超滤、盐析和透析程序来分离和纯化蛋白。

[0195] 在其他实施方案中,可以破坏宿主细胞,例如通过渗透压休克、超声处理或裂解破坏宿主细胞,以回收表达的蛋白。一旦细胞被破坏,就可以通过离心或过滤除去细胞碎片。在一些情况下,多肽可以与标记序列(诸如肽)缀合以促进纯化。标记氨基酸序列的实例是六组氨酸肽(His-标签),其以微摩尔亲和力结合镍官能化的琼脂糖亲和柱。可用于纯化的其他肽标签包括但不限于血凝素“HA”标签,其对应于衍生自流感血凝素蛋白的表位(Wilson等人,Cell 37:767,1984)。

[0196] 或者,本发明的多肽可以由受试者(例如,人)的细胞产生,例如,在基因疗法的背景下,通过施用含有编码本发明的多肽的核酸分子的载体(诸如病毒载体(例如,逆转录病毒载体、腺病毒载体、痘病毒载体(例如,牛痘病毒载体,诸如修饰的牛痘病毒Ankara(MVA))、腺相关病毒载体和甲病毒载体))来产生。载体,一旦在受试者的细胞内(例如,通过转化、转染、电穿孔、磷酸钙沉淀、直接显微注射、感染等),将促进多肽的表达,然后所述多肽从细胞分泌。如果疾病或病症的治疗是期望的结果,则可能不需要进一步行动。如果期望收集蛋白,则可以从受试者收集血液,并且通过本领域中已知的方法从血液纯化蛋白。

[0197] VIII. 药物组合物和制剂

[0198] 本发明的特征在于药物组合物,其包含本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽)。在一些实施方案中,本发明的药物组合物包含具有C-末端延伸(例如,1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸)的包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽作为治疗性蛋白。在一些实施方案中,本发明的药物组合物包含与部分(例如,Fc结构域单体或其二聚体、野生型Fc结构域、具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域、白蛋白结合肽、纤连蛋白结构域或人血清白蛋白)融合的包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽作为治疗性蛋白。在一些实施方案中,包含本发明的多肽的本发明的药物组合物可以与其他药剂(例如,治疗性生物制剂和/或小分子)或组合物组合用于疗法中。除了治疗有效量的多肽以外,所述药物组合物还可以包含一种或多种药学上可接受的载体或赋形剂,其可以通过本领域技术人员已知的方法配制。在一些实施方案中,本发明的药物组合物包含编码本发明的多肽的核酸分子(DNA或RNA,例如mRNA),或含有这种核酸分子的载体。

[0199] 药物组合物中可接受的载体和赋形剂在所用剂量和浓度下对受体无毒。可接受的载体和赋形剂可以包括缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐、HEPES和TAE,抗氧化剂,诸如抗坏血

酸和甲硫氨酸,防腐剂,诸如氯化六甲基铵、十八烷基二甲基苄基氯化铵、间苯二酚和苯扎氯铵,蛋白,诸如人血清白蛋白、明胶、葡聚糖和免疫球蛋白,亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮,氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、组氨酸和赖氨酸,和碳水化合物,诸如葡萄糖、甘露糖、蔗糖和山梨糖醇。本发明的药物组合物可以以可注射制剂的形式肠胃外施用。可以使用无菌溶液或任何药学上可接受的液体作为媒介物配制用于注射的药物组合物。药学上可接受的媒介物包括但不限于无菌水、生理盐水和细胞培养基(例如Dulbecco氏改良的Eagle培养基(DMEM), α -改良的Eagles培养基(d-MEM),F-12培养基)。配制方法是本领域中已知的,参见例如,Banga(编)Therapeutic Peptides and Proteins:Formulation,Processing and Delivery Systems(第3版)Taylor&Francis Group,CRC Press(2015)。

[0200] 本发明的药物组合物可以在微胶囊、诸如羟甲基纤维素或明胶-微胶囊和聚-(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊中制备。本发明的药物组合物还可以在其他药物递送系统、诸如脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊中制备。此类技术描述于Remington:The Science and Practice of Pharmacy第22版(2012)。待用于体内施用的药物组合物必须是无菌的。这可以通过无菌过滤膜过滤而容易地完成。

[0201] 本发明的药物组合物也可以制备为持续释放制剂。持续释放制剂的合适实例包括含有本发明的多肽的固体疏水聚合物的半透性基质。持续释放基质的实例包括聚酯、水凝胶、聚丙烯交酯、L-谷氨酸和 γ -乙基-L-谷氨酸的共聚物,不可降解的乙烯-乙酸乙烯酯,可降解的乳酸-乙醇酸共聚物诸如LUPRON DEPOTTM和聚-D-(-)-3-羟基丁酸。一些持续释放制剂使得能够经几个月、例如一至六个月释放分子,而其他制剂释放本发明的药物组合物较短时间段,例如数天至数周。

[0202] 药物组合物可以根据需要以单位剂型形成。药物制备物中包括的活性成分(例如,本发明的多肽)的量是使得提供指定范围内的合适剂量(例如,0.01-100mg/kg体重范围内的剂量)。

[0203] 用于基因疗法的药物组合物可以在可接受的稀释剂中,或者可以包含其中嵌入基因递送载体的缓释基质。如果使用流体动力学注射作为递送方法,则含有编码本文所述的多肽的核酸分子或含有所述核酸分子的载体(例如,病毒载体)的药物组合物以大流体体积静脉内快速递送。可用作体内基因递送媒介物的载体包括但不限于逆转录病毒载体、腺病毒载体、痘病毒载体(例如,牛痘病毒载体,诸如修饰的牛痘病毒Ankara)、腺相关病毒载体和甲病毒载体。

[0204] IX. 途径、剂量和施用

[0205] 包含本发明的多肽作为治疗性蛋白的药物组合物可以配制用于例如静脉内施用、肠胃外施用、皮下施用、肌肉内施用、动脉内施用、鞘内施用或腹膜内施用。所述药物组合物还可以配制用于口服、鼻、喷雾、气溶胶、直肠或阴道施用或经由口服、鼻、喷雾、气溶胶、直肠或阴道施用而施用。对于可注射制剂,各种有效的药物载体是本领域中已知的。参见,例如,ASHP Handbook on Injectable Drugs,Toissel,第18版(2014)。

[0206] 在一些实施方案中,包含编码本发明的多肽的核酸分子或含有这种核酸分子的载体的药物组合物可以通过基因递送的方式施用。基因递送的方法是本领域技术人员众所周知的。可用于体内基因递送和表达的载体包括但不限于逆转录病毒载体、腺病毒载体、痘病毒载体(例如,牛痘病毒载体,诸如修饰的牛痘病毒Ankara(MVA))、腺相关病毒载体和甲病毒载体。

毒载体。在一些实施方案中,编码本发明的多肽的mRNA分子可以直接施用于受试者。

[0207] 在本发明的一些实施方案中,可以使用流体动力学注射平台施用编码本文所述的多肽的核酸分子或含有此类核酸分子的载体。在流体动力学注射方法中,将编码本文所述的多肽的核酸分子置于工程改造的质粒(例如病毒质粒)中的强启动子的控制下。经常以大流体体积静脉内快速递送质粒。流体动力学注射使用静脉中的受控流体动力学压力来增强细胞通透性,使得来自快速注射大流体体积的升高的压力导致流体和质粒从静脉外渗。核酸分子的表达主要由肝脏驱动。在小鼠中,经常通过将质粒注射至尾静脉中来进行流体动力学注射。在某些实施方案中,可以使用流体动力学注射施用编码本文所述的多肽的mRNA分子。

[0208] 本发明的药物组合物的剂量取决于因素,包括施用途径、待治疗的疾病和受试者的身体特征,例如年龄、体重、总体健康状况。本发明的药物组合物可以包括范围为如下的本发明的多肽的剂量:0.01至500mg/kg(例如,0.01、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、150、200、250、300、350、400、450或500mg/kg),并且在一个更具体实施方案中,约0.1至约30mg/kg,并且在一个更具体实施方案中,约0.3至约30mg/kg。剂量可以由医师根据常规因素、诸如疾病的程度和受试者的不同参数进行调整。

[0209] 药物组合物以与剂量制剂相容的方式和导致症状的改善或补救的治疗有效的量施用。药物组合物以各种剂型、例如静脉内剂型、皮下剂型和口服剂型(例如,可摄入的溶液、药物释放胶囊)施用。通常,治疗性蛋白以0.1-100mg/kg、例如1-50mg/kg给药。包含本发明的多肽的药物组合物可以施用于有此需要的受试者,例如,每天、每周、每两周、每月、每两月、每季度、每两年、每年一次或多次(例如,1-10次或更多次),或在医疗上必需时。在一些实施方案中,包含本发明的多肽的药物组合物可以每周、每两周、每月、每两月或每季度施用于有此需要的受试者。剂量可以以单剂量或多剂量方案提供。随着患者的健康状况下降,随着医疗条件改善或增加,施用之间的时机可以减少。

[0210] X. 处理方法

[0211] 本发明基于以下发现:将来自ActRIIb的细胞外部分的氨基酸取代至ActRIIa的细胞外部分中,产生具有改善特性的ActRIIa变体。通过将ActRIIb中的残基引入ActRIIa而生成的ActRIIa变体保留ActRIIa的有益特性,诸如更长的血清半衰期和对BMP9的低结合亲和力,并获得ActRIIb的一些有益特性,诸如增加的与激活素A和B的结合(参见表4)和增加肌肉质量的能力(参见实施例1-3和5-6)。这些ActRIIa变体特性产生有用的治疗剂,其可以与内源性激活素受体竞争配体结合。由于ActRIIa变体含有所述受体的细胞外部分,它们将是可溶的并且能够结合并隔绝配体(例如,激活素A和B、肌肉生长抑制素、GDF11)而不激活细胞内信号传导途径。因此,细胞外ActRIIa变体可用于治疗其中升高的激活素信号传导已牵涉(例如,与激活素受体或激活素受体配体的表达增加相关)的疾病或病况。例如,已经显示肌肉生长抑制素的丧失增加骨骼肌质量,表明肌肉生长抑制素抑制骨骼肌生长。因此,用结合肌肉生长抑制素并减少其与内源性受体的相互作用的治疗剂治疗可能是增加肌肉质量的可行方法。实际上,本发明的细胞外ActRIIa变体增加小鼠中的肌肉质量(参见实施例1-3和5-6)。这些数据表明,本文所述的细胞外ActRIIa变体可用于增加肌肉质量并治疗具有导致肌肉的无力或萎缩的疾病或病况的受试者。

[0212] 而且,这些数据提供了使用本发明的细胞外ActRIIa变体来治疗与激活素受体或

激活素受体配体的表达升高相关的其他疾病或病况、诸如代谢疾病(例如,肥胖症、1型糖尿病和2型糖尿病)的令人信服的理由。许多研究已显示,增加肌肉质量是减少体脂和/或体重的一种方法,表明本文所述的细胞外ActRIIa变体可用于间接通过增加肌肉质量而治疗代谢疾病(例如,肥胖症、1型糖尿病和2型糖尿病)。然而,由于已经显示激活素受体和激活素受体配体在肥胖小鼠和人中增加,本文所述的细胞外ActRIIa变体可用于通过减少升高的激活素受体信号传导(例如,通过结合和隔绝内源性激活素受体配体,例如,激活素和肌肉生长抑制素)来治疗肥胖症。

[0213] 本发明提供了可用于增加有此需要的受试者中的肌肉质量和强度的组合物和治疗方法。在一些实施方案中,所述受试者可能具有导致肌肉无力或萎缩(例如,骨骼肌无力或萎缩)的疾病。在一些实施方案中,本文所述的方法涉及影响具有涉及肌肉的无力和萎缩的疾病或病况的受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。在一些实施方案中,包含本文所述的细胞外ActRIIa变体的多肽减少或抑制肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9与其受体、例如ActRIIa、ActRIIb和BMPRII(例如,ActRIIa)的结合。在一些实施方案中,影响肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导(例如,减少或抑制肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9与其受体、例如ActRIIa、ActRIIb和BMPRII(例如,ActRIIa)的结合)导致受试者的肌肉质量增加。

[0214] 在一些实施方案中,可以将本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽)施用于受试者以增加肌肉质量,或影响受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。在一些实施方案中,本文所述的方法增加受试者的骨矿物质密度。在一些实施方案中,本文所述的方法不会引起受试者中的任何血管并发症,诸如血管通透性或渗漏增加。在本文所述方法的一些实施方案中,所述受试者具有涉及肌肉的无力和萎缩的疾病或病况(例如,Duchenne肌营养不良症(DMD)、面肩肱型肌营养不良症(FSHD)、包涵体肌炎(IBM)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、肌肉减少症或癌症恶病质)。

[0215] 本发明还包括通过向受试者施用本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽)来治疗具有Duchenne肌营养不良症(DMD)、面肩肱型肌营养不良症(FSHD)、包涵体肌炎(IBM)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、肌肉减少症或癌症恶病质的受试者的方法。

[0216] 本文所述的组合物和方法还可用于治疗或/或预防医学病况,诸如代谢疾病,例如肥胖症和糖尿病(1型和2型糖尿病)。在一些实施方案中,所述受试者可能具有导致肥胖的疾病。在一些实施方案中,本文所述的方法涉及影响具有肥胖症、糖尿病(1型和2型糖尿病)或导致肥胖的疾病或病况的受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。在一些实施方案中,包含本文所述的细胞外ActRIIa变体的多肽减少或抑制肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9与其受体、例如ActRIIa、ActRIIb和BMPRII(例如,ActRIIa)的结合。在一些实施方案中,影响肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导(例如,减少或抑制肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9与其受体、例如ActRIIa、ActRIIb和BMPRII(例如,ActRIIa)的结合)导致受试者的体脂(例如,体脂量或体脂百分比)减少,受试者的体重或体重增加减少,空腹胰岛素水平降低,葡萄糖清除率增加或胰岛素敏感性增加(例如,胰岛素抵抗降低)。

[0217] 在一些实施方案中,可以将本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例

如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体的多肽)施用于受试者以预防肥胖症的发展(例如,在处于发展肥胖症的风险中的患者,例如,超重的患者,具有肥胖家族史的患者,或具有与肥胖风险增加相关的其他医学病况或遗传风险因素的患者中),和/或治疗已经诊断具有肥胖症的患者。例如,将细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)施用于受试者可以通过减少脂肪量来帮助减轻受试者的体重。在一些实施方案中,所述细胞外ActRIIa变体减少脂肪量,同时维持或增加瘦体重量。

[0218] 在一些实施方案中,本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽)可用于预防糖尿病(例如,1型和2型糖尿病)的发展和/或治疗已经诊断具有糖尿病的患者。可以向可能发展糖尿病的患者,例如具有糖尿病的遗传倾向、家族史、前驱糖尿病、与其他自身免疫疾病或其他代谢疾病的关联的个体预防性地施用本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽),使得所述细胞外ActRIIa多肽可以维持 β -细胞的正常功能和健康和预防或延迟对 β -细胞的自身免疫炎症性损伤。在其他实施方案中,可以在个体被诊断具有糖尿病(例如,1型和2型糖尿病)或发展糖尿病的临床症状,例如高血液葡萄糖水平、高空腹胰岛素水平、胰岛素抵抗、多尿、烦渴和多食症之前,将本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽)施用于所述个体。在一些实施方案中,可以在患者需要胰岛素之前将细胞外ActRIIa多肽施用于患者。在还有其他实施方案中,细胞外ActRIIa多肽的施用可以延迟或推迟对糖尿病患者中胰岛素治疗的需求。例如,将本发明的细胞外ActRIIa多肽施用于受试者可以帮助增加从血液的葡萄糖清除率。

[0219] 在一些实施方案中,可以将本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽)施用于受试者以预防肥胖症或糖尿病(例如,1型和2型糖尿病)的发展和/或治疗具有肥胖症或糖尿病(例如,1型和2型糖尿病)的患者,或影响受试者中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导(例如,减少或抑制激活素、肌肉生长抑制素和/或BMP9与其受体的结合)。在一些实施方案中,本文所述的方法减少体脂(例如,减少皮下和/或内脏脂肪的量,减少肥胖,减少附睾和肾周脂肪垫的重量,或降低体脂百分比)。在一些实施方案中,本文所述的方法减少体重或减少体重增加(例如,减少体重增加的百分比)。在一些实施方案中,本文所述的方法减少脂肪细胞的增殖。在一些实施方案中,本文所述的方法降低LDL。在一些实施方案中,本文所述的方法降低甘油三酯。在一些实施方案中,本文所述的方法改善受试者的血清脂质概况。在一些实施方案中,本文所述的方法减少体脂而不减少瘦体重(例如,不影响瘦体重或增加瘦体重)。在一些实施方案中,本文所述的方法减少体脂并增加肌肉质量。在一些实施方案中,本文所述的方法降低血液葡萄糖水平(例如,空腹葡萄糖水平)或/和增加葡萄糖清除率。在一些实施方案中,本文所述的方法降低空腹胰岛素水平和/或改善胰岛素敏感性(例如,降低胰岛素抵抗)。在一些实施方案中,本文所述的方法调节胰岛素生物合成和/或从 β -细胞的分泌。在一些实施方案中,本文所述的方法不影响食物摄入的食欲。在一些实施方案中,本文所述的方法不会引起受试者中的任何血管并发症,

诸如血管通透性或渗漏增加。

[0220] 在一些实施方案中,本文所述的多肽(例如,包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽)通过增加肌肉质量来减少体脂、减轻体重或增加胰岛素敏感性和/或葡萄糖清除率。

[0221] 在任何本文所述的方法中,进一步包括一至六个氨基酸(例如,1、2、3、4、5、6或更多个氨基酸)的C-末端延伸的包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-71(例如,SEQ ID NO:6-71)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽可以用作治疗性蛋白。在任何本文所述的方法中,与部分(例如,Fc结构域单体、野生型Fc结构域、具有氨基酸取代(例如,一个或多个减少二聚化的取代)的Fc结构域、白蛋白结合肽、纤连蛋白结构域或人血清白蛋白)融合的包含细胞外ActRIIa变体(例如,具有SEQ ID NO:1-72(例如,SEQ ID NO:6-72)中的任一个的序列的细胞外ActRIIa变体)的多肽的二聚体(例如,同二聚体或异二聚体)可以用作治疗性蛋白。编码本文所述的多肽的核酸或含有所述核酸的载体也可以根据本文所述的任何方法施用。在任何本文所述的方法中,所述多肽、核酸或载体可以作为药物组合物的一部分施用。

实施例

[0222] 实施例1-细胞外ActRIIa变体对体重的影响

[0223] C57B1/6小鼠接受编码以下六种多肽之一的质粒构建体的单次流体动力学注射($n=10$ /组):

[0224] (1) 人Fc(hFc),

[0225] (2) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIa(SEQ ID NO:73);

[0226] (3) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIb(SEQ ID NO:74);

[0227] (4) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIa变体(SEQ ID NO:69);和

[0228] (5) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIb变体(SEQ ID NO:149)。

[0229] 经5-8秒以10%体重的体积递送100 μ g质粒构建体。高体积和短时段的注射提供了将质粒引入其中质粒将被表达(特别是目标蛋白在强和普遍存在的启动子下表达)的肝细胞所需的压力。目标蛋白在肝细胞的内源性机制下分泌并自由循环。将小鼠每周称重两次,持续30天,并将测量值记录为以克计的绝对体重(BW)和距基线测量值的体重变化百分比(分别为图2A和2B)。

[0230] 实施例2-细胞外ActRIIa变体对肌肉质量的影响

[0231] 小鼠接受编码以下六种多肽之一的质粒构建体的单次流体动力学注射($n=10$ /组):

[0232] (1) 人Fc(hFc),

[0233] (2) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIa(SEQ ID NO:73);

[0234] (3) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIb(SEQ ID NO:74);

[0235] (4) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIa变体(SEQ ID NO:69);和

[0236] (5) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIb变体(SEQ ID NO:149)。

[0237] 经5-8秒以10%体重的体积递送100 μ g质粒构建体。高体积和短时段的注射提供了将质粒引入其中质粒将被表达(特别是目标蛋白在强和普遍存在的启动子下表达)的肝细

胞所需的压力。目标蛋白在肝细胞的内源性机制下分泌并自由循环。在研究第0天(基线)、第14天和第28天,使用MiniSpec LF90 NMR分析仪(Bruker, Woodlands, TX),使小鼠经历NMR分析以测定瘦体重。在第14天和第28天记录距基线的瘦体重变化百分比(图3A和3B)。

[0238] 实施例3-当作为纯化的重组蛋白施用时,细胞外ActRIIa变体对体重的影响雌性C57Bl/6小鼠(Taconic Biosciences, Hudson NY)以10mg/kg的剂量每周两次、持续四周接受tris缓冲盐水媒介物或以下五种纯化的重组多肽之一的腹膜内注射(n=10/组):

[0239] (1) tris-缓冲盐水媒介物,

[0240] (2) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIa (SEQ ID NO:73);

[0241] (3) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIb (SEQ ID NO:74);

[0242] (4) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIa/b变体 (SEQ ID NO:69);

[0243] (5) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRIIa/b Δ 9变体 (SEQ ID NO:58); 和

[0244] (6) 通过GGG接头与hFc的N-末端融合的细胞外ActRII a/b Δ 9min变体 (SEQ ID NO:6)。

[0245] 通过在HEK293细胞中瞬时表达来制备纯化的重组蛋白,并使用蛋白-A琼脂糖凝胶色谱法从调节培养基中纯化。

[0246] 给药四周后,人道地处死小鼠并进行尸检。尸检包括收集整个身体以及腓肠肌、胸肌和股四头肌的重量。肌肉/体重数据的统计分析在GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, La Jolla CA) 中进行(分别为图4A和4B)。

[0247] 实施例4-通过表面等离子体共振 (SPR) 评估ActRIIa变体结合亲和力Biacore 3000用于测量ActRIIa变体和配体激活素A、激活素B、生长分化因子11 (GDF11) 和BMP-9之间相互作用的动力学。根据实施例3中描述的方法表达和纯化ActRIIa变体。将ActRIIa变体在流动室2-4中用捕获抗体(来自GEGE的抗小鼠)固定在芯片(CM4或CM5)上以确保正确定向。流动室1用作参考室以减去任何非特异性结合和体积效应。来自GE HealthcareTM的HBS-EP+缓冲液用作运行缓冲液。每种配体以40 μ l/min的浓度系列运行以避免质量传递效应。使用BioLogicTM软件的Scrubber2分析数据以计算每种相互作用的 K_D (表4)。

[0248] 表4:ActRIIa变体与各种配体的结合亲和力(K_D)的比较

[0249]

	激活素 A (K _D)	激活素 B (K _D)	GDF-11 (K _D)	BMP-9 (K _D)
媒介物	N/A	N/A	N/A	N/A
ActRIIa (SEQ ID NO: 73)	1 nM	373 pM	81 pM	25 nM
ActRIIb (SEQ ID NO: 74)	63 pM	23 pM	115 pM	278 pM
ActRIIa/b 变体 (SEQ ID NO: 69)	542 pM	103 pM	186 pM	4 nM
ActRIIb/a 变体 (SEQ ID NO: 149)	无结合	无结合	无结合	无结合
ActRIIa/bΔ9 变体 (SEQ ID NO: 58)	213 pM	12.3 pM	115 pM	10 nM
ActRIIa/bΔ9 min 变体 (SEQ ID NO: 6)	310 pM	88 pM	114 pM	17 nM
ActRIIa/b+ 变体 (SEQ ID NO: 150)	242 pM	282 pM	无解离	26 nM
ActRIIa/bΔ9m2 变体 (SEQ ID NO: 38)	170 pM	104 pM	222 pM	13-18 nM
ActRIIa/bΔ9m3 变体 (SEQ ID NO: 41)	71 pM	72.5 pM	117 pM	1.2 nM
ActRIIa/bΔ9m4 变体 (SEQ ID NO: 44)	375 pM	254 pM	394 pM	14-20 nM
ActRIIa/bmax1 变体 (SEQ ID NO: 70)	232 pM	97 pM	236 pM	5.6 nM
ActRIIa/bmax2 变体 (SEQ ID NO: 71)	135 pM	39 pM	113 pM	5 nM
ActRIIa/bmax3 变体 (SEQ ID NO: 72)	89 pM	43 pM	214 pM	3.3 nM

[0250] * 未在HDI中完成,但重组蛋白表明BW结果与ActRIIa/b相似

[0251] 实施例5-细胞外ActRIIa变体对身体和肌肉重量的影响

[0252] C57B1/6小鼠接受编码以下十二多肽之一的质粒构建体的单次流体动力学注射 (n = 10/组) :

[0253] (1) 媒介物;

[0254] (2) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa (19-127) (SEQ ID NO: 73) ;

[0255] (3) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIb (41-155) (SEQ ID NO: 74) ;

[0256] (4) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa/b (SEQ ID NO: 69) ;

[0257] (5) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIb/a (SEQ ID NO: 149) ;

[0258] (6) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa/b+ (SEQ ID NO: 150) ;

[0259] (7) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa/b-delta 9m2 (SEQ ID

NO:38) ;

[0260] (8) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa/b-delta 9m3 (SEQ ID NO:41) ;

[0261] (9) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa/b-delta 9m4 (SEQ ID NO:44) ;

[0262] (10) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa/bmax1 (SEQ ID NO:70) ;

[0263] (11) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa/bmax2 (SEQ ID NO:71) ;和

[0264] (12) pLEV113-通过GGG接头与hFc的N-末端融合的ActRIIa/bmax1 (SEQ ID NO:72) 。

[0265] 经5-8秒以10%体重的体积递送100 μ g质粒构建体。高体积和短时段的注射提供了将质粒引入其中质粒将被表达(特别是目标蛋白在强和普遍存在的启动子下表达)的肝细胞所需的压力。目标蛋白在肝细胞的内源性机制下分泌并自由循环。将小鼠每周称重两次,持续30天,并将测量值记录为以克计的绝对体重(BW)和距基线测量值的体重变化百分比(分别为图5A和5B)。还在研究结束时将肌肉称重,并以克数记录测量值(图6A和6B)。

[0266] 实施例6-细胞外ActRIIa变体对体重、肌肉重量和肌肉质量的剂量效应将8周龄雄性C57BL/6小鼠重量匹配成9组(n=10/组)。向各组给药5mL/kg媒介物(Tris缓冲盐水,pH 7.4)或4种浓度之一的ActRIIA/B-Fc(通过GGG接头与hFc的N-末端融合的SEQ ID NO:69)或ActRIIA/B Δ 9-Fc(通过GGG接头与hFc的N-末端融合的SEQ ID NO:58)。评估的剂量为20mg/kg、8mg/kg、3mg/kg和1mg/kg。每周两次腹腔内(IP)施用治疗,持续4周(8个剂量),并且在研究第28天终止研究。在整个研究的给药日记录体重(图7A和7B),并且在研究终止时,各组经历NMR成像用于瘦肉和脂肪质量分析(图8A和8B),并且收集和称重胸肌和腓肠肌重量(图9A和9B)。

[0267] 实施例7-细胞外ActRIIa变体对肥胖的影响

[0268] 将成年雄性C57BL/6小鼠分配至体重匹配的治疗组(n=10/组)。将所有动物以常规饮食(Chow;Purina LabDiet 5001;St.Louis,MO)或高脂肪饮食(HFD;Research Diets D12331;New Brunswick,NJ)维持。将Chow-和HFD-喂养的组进一步分成用ActRII变体或媒介物每周两次给药60天的时段的组。在治疗时每周两次测量体重。使用MiniSpec LF50在基线(施用治疗和转移至HFD之前)测量身体组成,且然后每隔一周测量,直至研究结束。在研究终止日期时,手术移取目标组织(血清、血浆、肌肉和脂肪贮库)并称重。随后评估血清样品的肥胖的生物标志物,并评估血浆的HbA1c水平。

[0269] 其他实施方案

[0270] 尽管已经结合本发明的具体实施方案描述了本发明,但应该理解,其能够进行进一步的修改,并且本申请旨在覆盖本发明的任何变型、用途或调整,其遵循一般而言本发明的原理且包括属于本发明所属领域内的已知或惯常实践的与本公开的此类偏离,并且可以应用于上文所述的基本特征。

[0271] 所有出版物、专利和专利申请均通过引用以其整体并入本文,其程度如同每个单独的出版物、专利或专利申请被具体和单独地指出通过引用以其整体并入。

[0272] 其他实施方案在以下权利要求内。

序列表

<110> Keros Therapeutics, Inc.
<120> 激活素受体IIA型变体及其使用方法
<130> 51184-002W03
<150> US 62/531,943
<151> 2017-07-13
<150> US 62/420,476
<151> 2016-11-10
<160> 155
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 合成构建体
[0001] <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (14).. (14)
<223> Xaa是Phe或Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15).. (15)
<223> Xaa是Phe或Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20).. (20)
<223> Xaa是Glu或Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21).. (21)
<223> Xaa是Lys或Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (22).. (22)
<223> Xaa是Asp或Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23).. (23)
<223> Xaa是Arg或Ala

	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (31).. (31)
	<223> Xaa是Pro或Arg
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (33).. (33)
	<223> Xaa是Tyr或Glu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (35).. (35)
	<223> Xaa是Asp或Glu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (36).. (36)
	<223> Xaa是Lys或Gln
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (37).. (37)
	<223> Xaa是Asp或Ala
[0002]	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (38).. (38)
	<223> Xaa是Lys或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (39).. (39)
	<223> Xaa是Arg或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (40).. (40)
	<223> Xaa是Arg或Leu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (43).. (43)
	<223> Xaa是Phe或Tyr
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (47).. (47)
	<223> Xaa是Lys, Arg或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (57).. (57)
	<223> Xaa是Lys, Ala, Tyr, Phe或Ile

	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(58).. (58)
	<223>	Xaa是Gln或Lys
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(61).. (61)
	<223>	Xaa是Trp或Ala
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(62).. (62)
	<223>	Xaa是Leu或Ala
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(63).. (63)
	<223>	Xaa是Asp, Lys, Arg, Ala, Phe, Gly, Met, Asn或Ile
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(65).. (65)
	<223>	Xaa是Ile, Phe或Ala
[0003]	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(76).. (76)
	<223>	Xaa是Lys或Thr
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(77).. (77)
	<223>	Xaa是Lys或Glu
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(78).. (78)
	<223>	Xaa是Asp或Glu
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(79).. (79)
	<223>	Xaa是Ser或Asn
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(81).. (81)
	<223>	Xaa是Glu或Gln
	<400>	1
	Gly	Ala
	Ile	Leu
	Gly	Arg
	Ser	Glu
	Thr	Gln
	Glu	Cys
	Leu	Xaa
	Xaa	Asn
	1	5
		10
		15

Ala Asn Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Xaa Cys
20 25 30

Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His Cys Xaa Ala Thr Trp Xaa Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Xaa Xaa Gly Cys Xaa Xaa Xaa Asp
50 55 60

Xaa Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Pro
65 70 75 80

Xaa Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 2
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

[0004]

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15).. (15)
<223> Xaa是Phe或Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (20).. (20)
<223> Xaa是Glu或Ala

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21).. (21)
<223> Xaa是Lys或Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (22).. (22)
<223> Xaa是Asp或Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (23).. (23)

	<223> Xaa是Arg或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (31).. (31)
	<223> Xaa是Pro或Arg
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (33).. (33)
	<223> Xaa是Tyr或Glu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (35).. (35)
	<223> Xaa是Asp或Glu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (37).. (37)
	<223> Xaa是Asp或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (38).. (38)
	<223> Xaa是Lys或Ala
[0005]	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (39).. (39)
	<223> Xaa是Arg或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (40).. (40)
	<223> Xaa是Arg或Leu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (43).. (43)
	<223> Xaa是Phe或Tyr
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (47).. (47)
	<223> Xaa是Lys, Arg或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (57).. (57)
	<223> Xaa是Lys, Ala, Tyr, Phe或Ile
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (58).. (58)
	<223> Xaa是Gln或Lys

	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (61).. (61)
	<223> Xaa是Trp或Ala
	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (62).. (62)
	<223> Xaa是Leu或Ala
	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (63).. (63)
	<223> Xaa是Asp, Lys, Arg, Ala, Phe, Gly, Met, Asn或Ile
	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (65).. (65)
	<223> Xaa是Ile, Phe或Ala
	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (76).. (76)
	<223> Xaa是Lys或Thr
[0006]	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (77).. (77)
	<223> Xaa是Lys或Glu
	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (78).. (78)
	<223> Xaa是Asp或Glu
	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (79).. (79)
	<223> Xaa是Ser或Asn
	<220>
	<221> MISC FEATURE
	<222> (81).. (81)
	<223> Xaa是Glu或Gln
	<400> 2
	Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Xaa Asn
	1 5 10 15
	Ala Asn Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Xaa Cys
	20 25 30

Xaa Gly Xaa Lys Xaa Xaa Xaa Xaa His Cys Xaa Ala Thr Trp Xaa Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Xaa Xaa Gly Cys Xaa Xaa Xaa Asp
50 55 60

Xaa Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Pro
65 70 75 80

Xaa Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 3
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0007]

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15).. (15)
<223> Xaa是Phe或Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21).. (21)
<223> Xaa是Lys或Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (22).. (22)
<223> Xaa是Asp或Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (31).. (31)
<223> Xaa是Pro或Arg

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (33).. (33)
<223> Xaa是Tyr或Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE

	<222> (35).. (35)
	<223> Xaa是Asp或Glu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (40).. (40)
	<223> Xaa是Arg或Leu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (43).. (43)
	<223> Xaa是Phe或Tyr
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (47).. (47)
	<223> Xaa是Lys, Arg或Ala
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (58).. (58)
	<223> Xaa是Gln或Lys
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (65).. (65)
	<223> Xaa是Ile, Phe或Ala
[0008]	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (76).. (76)
	<223> Xaa是Lys或Thr
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (77).. (77)
	<223> Xaa是Lys或Glu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (78).. (78)
	<223> Xaa是Asp或Glu
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (79).. (79)
	<223> Xaa是Ser或Asn
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (81).. (81)
	<223> Xaa是Glu或Gln
	<400> 3
Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Xaa Asn	

1	5	10	15
Ala Asn Trp Glu Xaa Xaa Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Xaa Cys	20	25	30
Xaa Gly Xaa Lys Asp Lys Arg Xaa His Cys Xaa Ala Thr Trp Xaa Asn	35	40	45
Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Xaa Gly Cys Trp Leu Asp Asp	50	55	60
Xaa Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Xaa Xaa Xaa Xaa Pro	65	70	75
Xaa Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe	85	90	95
Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser	100	105	

[0009] <210> 4
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (15)..(15)
 <223> Xaa是Phe或Tyr

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (21)..(21)
 <223> Xaa是Lys或Leu

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (31)..(31)
 <223> Xaa是Pro或Arg

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (33)..(33)
 <223> Xaa是Tyr或Glu

	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(35).. (35)
	<223>	Xaa是Asp或Glu
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(40).. (40)
	<223>	Xaa是Arg或Leu
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(43).. (43)
	<223>	Xaa是Phe或Tyr
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(47).. (47)
	<223>	Xaa是Lys, Arg或Ala
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(58).. (58)
	<223>	Xaa是Gln或Lys
[0010]	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(65).. (65)
	<223>	Xaa是Ile, Phe或Ala
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(76).. (76)
	<223>	Xaa是Lys或Thr
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(78).. (78)
	<223>	Xaa是Asp或Glu
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(79).. (79)
	<223>	Xaa是Ser或Asn
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(81).. (81)
	<223>	Xaa是Glu或Gln
	<400>	4
	Gly	Ala
	Ile	Leu
	Gly	Arg
	Ser	Glu
	Thr	Gln
	Glu	Cys
	Leu	Phe
	Xaa	Asn
	1	5
		10
		15

Ala Asn Trp Glu Xaa Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Xaa Cys
20 25 30

Xaa Gly Xaa Lys Asp Lys Arg Xaa His Cys Xaa Ala Thr Trp Xaa Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Xaa Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Xaa Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Xaa Lys Xaa Xaa Pro
65 70 75 80

Xaa Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 5
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

[0011]

<220>
<223> 合成构建体

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (15).. (15)
<223> Xaa是Phe或Tyr

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (21).. (21)
<223> Xaa是Lys或Leu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (33).. (33)
<223> Xaa是Tyr或Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (35).. (35)
<223> Xaa是Asp或Glu

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (40).. (40)

<223> Xaa是Arg或Leu

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (58).. (58)

<223> Xaa是Gln或Lys

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (76).. (76)

<223> Xaa是Lys或Thr

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (78).. (78)

<223> Xaa是Asp或Glu

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (79).. (79)

<223> Xaa是Ser或Asn

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (81).. (81)

<223> Xaa是Glu或Gln

[0012] <400> 5

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Xaa Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Xaa Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Xaa Gly Xaa Lys Asp Lys Arg Xaa His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Xaa Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Xaa Lys Xaa Xaa Pro
65 70 75 80

Xaa Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 6
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 6

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
 20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
 35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
 50 55 60

[0013] Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
 65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
 85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
 100 105

<210> 7
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 7

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
 20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 8
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0014]

<400> 8

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser

100

105

<210> 9
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 9

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

[0015]

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 10
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 10

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys

	20	25	30
Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn	35	40	45
Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp	50	55	60
Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro	65	70	75 80
Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe	85	90	95
Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser	100	105	

<210> 11
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0016]

<220>
 <223> 合成构建体
 <400> 11

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn	1	5	10	15
Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys	20	25	30	
Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn	35	40	45	
Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp	50	55	60	
Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro	65	70	75 80	
Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe	85	90	95	

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 12
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 12

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

[0017] Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 13
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 13

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 14

<211> 109

<212> PRT

[0018] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 14

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe

85

90

95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 15
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 15

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

[0019]

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 16
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 16

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn

1	5	10	15
Ala Asn Trp	Glu Leu Glu Arg Thr	Asn Gln Thr Gly Val	Glu Pro Cys
	20	25	30
Glu Gly Glu	Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe	Ala Thr Trp Lys Asn	
	35	40	45
Ile Ser Gly	Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly	Cys Trp Leu Asp Asp	
	50	55	60
Phe Asn Cys	Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val	Glu Thr Lys Glu Asn Pro	
65	70	75	80
Gln Val Tyr	Phe Cys Cys Cys Glu Gly	Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe	
	85	90	95
Ser Tyr Phe	Pro Glu Met Glu Val Thr	Gln Pro Thr Ser	
	100	105	

[0020]

<210> 17
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 17

Gly Ala Ile	Leu Gly Arg Ser Glu Thr	Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1	5	10
Ala Asn Trp	Glu Leu Glu Arg Thr	Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
	20	25
Glu Gly Glu	Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe	Ala Thr Trp Lys Asn
	35	40
Ile Ser Gly	Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly	Cys Trp Leu Asp Asp
	50	55
Ile Asn Cys	Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val	Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65	70	75
		80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 18
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 18

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

[0021] Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 19
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 19

Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Arg	Ser	Glu	Thr	Gln	Glu	Cys	Leu	Phe	Tyr	Asn
1				5					10					15	
Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Asp	Arg	Thr	Asn	Gln	Thr	Gly	Val	Glu	Arg	Cys
			20					25					30		
Glu	Gly	Glu	Lys	Asp	Lys	Arg	Leu	His	Cys	Phe	Ala	Thr	Trp	Arg	Asn
		35					40					45			
Ile	Ser	Gly	Ser	Ile	Glu	Ile	Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp
	50					55					60				
Ile	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Thr	Asp	Cys	Val	Glu	Thr	Lys	Glu	Asn	Pro
65					70					75				80	
Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Lys	Phe
				85					90					95	
Ser	Tyr	Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser			
			100					105							

[0022]

<210> 20
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 合成构建体

 <400> 20

Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Arg	Ser	Glu	Thr	Gln	Glu	Cys	Leu	Phe	Tyr	Asn
1				5					10					15	
Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Asp	Arg	Thr	Asn	Gln	Thr	Gly	Val	Glu	Arg	Cys
			20					25					30		
Glu	Gly	Glu	Lys	Asp	Lys	Arg	Leu	His	Cys	Phe	Ala	Thr	Trp	Lys	Asn
		35					40					45			
Ile	Ser	Gly	Ser	Ile	Glu	Ile	Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp
	50					55					60				
Phe	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Thr	Asp	Cys	Val	Glu	Thr	Lys	Glu	Asn	Pro

65					70					75					80
Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Lys	Phe
				85					90					95	

Ser	Tyr	Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser
			100					105				

<210> 21
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 21

Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Arg	Ser	Glu	Thr	Gln	Glu	Cys	Leu	Phe	Tyr	Asn
1				5					10					15	

Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Asp	Arg	Thr	Asn	Gln	Thr	Gly	Val	Glu	Arg	Cys
			20					25					30		

[0023]

Glu	Gly	Glu	Lys	Asp	Lys	Arg	Leu	His	Cys	Phe	Ala	Thr	Trp	Lys	Asn
		35					40					45			

Ile	Ser	Gly	Ser	Ile	Glu	Ile	Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp
	50					55					60				

Ile	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Thr	Asp	Cys	Val	Glu	Thr	Glu	Glu	Asn	Pro
65					70					75				80	

Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Lys	Phe
				85					90					95	

Ser	Tyr	Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser
			100					105				

<210> 22
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 22

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

[0024] Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 23

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 23

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 24
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 24

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

[0025] Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 25
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 25

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

[0026]

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 26

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 26

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp

50

55

60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 27
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 27

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

[0027]

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 28
<211> 109
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 28

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

[0028] Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 29

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 29

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 30

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 30

[0029]

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 31

<211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 31

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
 20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
 35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
 50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
 65 70 75 80

[0030]

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
 85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
 100 105

<210> 32
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 32

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
 20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn

	35		40		45														
Ile	Ser	Gly	Ser	Ile	Glu	Ile	Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp				
	50					55					60								
Ile	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Thr	Asp	Cys	Val	Glu	Thr	Lys	Glu	Asn	Pro				
65					70					75					80				
Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Lys	Phe				
				85					90					95					
Ser	Tyr	Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser							
			100					105											

<210> 33
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

[0031] <400> 33

Gly	Ala	Ile	Leu	Gly	Arg	Ser	Glu	Thr	Gln	Glu	Cys	Leu	Phe	Tyr	Asn
1			5						10					15	
Ala	Asn	Trp	Glu	Leu	Glu	Arg	Thr	Asn	Gln	Thr	Gly	Val	Glu	Pro	Cys
			20					25					30		
Glu	Gly	Glu	Lys	Asp	Lys	Arg	Leu	His	Cys	Tyr	Ala	Thr	Trp	Lys	Asn
		35					40					45			
Ile	Ser	Gly	Ser	Ile	Glu	Ile	Val	Lys	Lys	Gly	Cys	Trp	Leu	Asp	Asp
	50					55					60				
Phe	Asn	Cys	Tyr	Asp	Arg	Thr	Asp	Cys	Val	Glu	Thr	Lys	Glu	Asn	Pro
65					70					75				80	
Gln	Val	Tyr	Phe	Cys	Cys	Cys	Glu	Gly	Asn	Met	Cys	Asn	Glu	Lys	Phe
				85					90					95	
Ser	Tyr	Phe	Pro	Glu	Met	Glu	Val	Thr	Gln	Pro	Thr	Ser			
			100					105							

<210> 34
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 34

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

[0032] Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 35
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 35

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 36
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0033]

<400> 36

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser

100

105

<210> 37
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 37

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

[0034]

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 38
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 38

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys

	20	25	30
	Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn 35 40 45		
	Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp 50 55 60		
	Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro 65 70 75 80		
	Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe 85 90 95		
	Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser 100 105		
[0035]	<210> 39		
	<211> 109		
	<212> PRT		
	<213> 人工序列		
	<220>		
	<223> 合成构建体		
	<400> 39		
	Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn 1 5 10 15		
	Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys 20 25 30		
	Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn 35 40 45		
	Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp 50 55 60		
	Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro 65 70 75 80		
	Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe 85 90 95		

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 40
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 40

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

[0036] Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 41
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 41

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 42

<211> 109

<212> PRT

[0037] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 42

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe

85

90

95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 43
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 43

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

[0038]

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 44
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 44

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn

1	5	10	15
Ala Asn Trp	Glu Leu Asp Arg Thr	Asn Gln Thr Gly Val	Glu Pro Cys
	20	25	30
Glu Gly Glu	Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr	Ala Thr Trp Arg Asn	
	35	40	45
Ile Ser Gly	Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly	Cys Trp Leu Asp Asp	
	50	55	60
Phe Asn Cys	Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val	Glu Thr Lys Glu Asn Pro	
	65	70	75
Gln Val Tyr	Phe Cys Cys Cys Glu Gly	Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe	
	85	90	95
Ser Tyr Phe	Pro Glu Met Glu Val Thr	Gln Pro Thr Ser	
	100	105	

[0039]

<210> 45
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 45

Gly Ala Ile	Leu Gly Arg Ser Glu Thr	Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1	5	10

Ala Asn Trp	Glu Leu Asp Arg Thr	Asn Gln Thr Gly Val	Glu Pro Cys
	20	25	30

Glu Gly Glu	Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr	Ala Thr Trp Arg Asn	
	35	40	45

Ile Ser Gly	Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly	Cys Trp Leu Asp Asp	
	50	55	60

Ile Asn Cys	Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val	Glu Thr Glu Glu Asn Pro	
	65	70	75

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 46
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 46

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

[0040] Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 47
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 47

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

[0041]

<210> 48
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 48

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro

〈220〉
〈223〉 合成构建体

<400> 50

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

[0043] Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 51

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 51

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 52
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 52

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

[0044] Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 53
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 53

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

[0045]

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 54

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 54

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp

50

55

60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 55

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 55

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

[0046]

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 56

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 56

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

[0047] Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 57

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 57

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 58

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 58

[0048]

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 59

<211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 59

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
 20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
 35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
 50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
 65 70 75 80

[0049]

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
 85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
 100 105

<210> 60
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 60

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
 20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn

35	40	45
Ile Ser Gly Ser Ile Glu	Ile Val Lys Lys Gly	Cys Trp Leu Asp Asp
50	55	60
Phe Asn Cys Tyr Asp	Arg Thr Asp Cys Val	Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65	70	75
Gln Val Tyr Phe	Cys Cys Cys Glu Gly	Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85	90	95
Ser Tyr Phe	Pro Glu Met Glu Val	Thr Gln Pro Thr Ser
100	105	

<210> 61
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

[0050] <400> 61

Gly Ala Ile Leu	Gly Arg Ser Glu Thr	Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1	5	10
Ala Asn Trp	Glu Leu Asp Arg Thr	Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20	25	30
Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg	Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn	
35	40	45
Ile Ser Gly Ser Ile Glu	Ile Val Lys Lys Gly	Cys Trp Leu Asp Asp
50	55	60
Phe Asn Cys Tyr Asp	Arg Thr Asp Cys Val	Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65	70	75
Gln Val Tyr Phe	Cys Cys Cys Glu Gly	Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85	90	95
Ser Tyr Phe	Pro Glu Met Glu Val	Thr Gln Pro Thr Ser
100	105	

<210> 62
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 62

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
 20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
 35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
 50 55 60

[0051] Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
 65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
 85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
 100 105

<210> 63
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 63

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
 20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Lys Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 64
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0052]

<400> 64

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser

100

105

<210> 65
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 65

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

[0053]

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 66
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 66

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys

	20	25	30
Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Phe Ala Thr Trp Arg Asn	35	40	45
Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp	50	55	60
Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro	65	70	75 80
Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe	85	90	95
Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser	100	105	

<210> 67
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0054]

<220>
 <223> 合成构建体
 <400> 67

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn	1	5	10	15
Ala Asn Trp Glu Leu Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys	20	25	30	
Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn	35	40	45	
Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp	50	55	60	
Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro	65	70	75 80	
Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe	85	90	95	

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 68
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 68

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

[0055] Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 69
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 69

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 70

<211> 109

<212> PRT

[0056] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 70

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Tyr Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe

85

90

95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 71
<211> 111
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 71

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Arg Cys
20 25 30

Glu Gly Glu Lys Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Thr Trp Arg Asn
35 40 45

[0057]

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Phe Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Thr Glu Glu Asn Pro
65 70 75 80

Gln Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn Pro
100 105 110

<210> 72
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 72

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn

1	5	10	15
Ala Asn Trp	Glu Leu Glu Arg Thr	Asn Gln Thr Gly Val	Glu Arg Cys
	20	25	30
Glu Gly Glu	Lys Asp Lys Arg	Leu His Cys Tyr Ala	Thr Trp Arg Asn
	35	40	45
Ile Ser Gly	Ser Ile Glu Ile	Val Lys Lys Gly Cys	Trp Leu Asp Asp
	50	55	60
Phe Asn Cys	Tyr Asp Arg Thr	Asp Cys Val Glu Thr	Glu Glu Asn Pro
	65	70	75
Gln Val Tyr	Phe Cys Cys Cys	Glu Gly Asn Met Cys	Asn Glu Lys Phe
	85	90	95
Ser Tyr Phe	Pro Glu Met Glu	Val Thr Gln Pro Thr	Ser Asn Pro Val
	100	105	110
[0058]	Thr Pro Lys		
	115		

<210> 73
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 73

Gly Ala Ile	Leu Gly Arg Ser	Glu Thr Gln Glu	Cys Leu Phe Phe	Asn
1	5	10	15	
Ala Asn Trp	Glu Lys Asp Arg Thr	Asn Gln Thr Gly Val	Glu Pro Cys	
	20	25	30	
Tyr Gly Asp	Lys Asp Lys Arg	Arg His Cys Phe Ala	Thr Trp Lys Asn	
	35	40	45	
Ile Ser Gly	Ser Ile Glu Ile	Val Lys Gln Gly Cys	Trp Leu Asp Asp	
	50	55	60	
Ile Asn Cys	Tyr Asp Arg Thr	Asp Cys Val Glu Lys	Lys Asp Ser Pro	
	65	70	75	80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 74
<211> 115
<212> PRT
<213> 智人

<400> 74

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Tyr Tyr Asn Ala Asn
1 5 10 15

Trp Glu Leu Glu Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Arg Cys Glu Gly
20 25 30

Glu Gln Asp Lys Arg Leu His Cys Tyr Ala Ser Trp Arg Asn Ser Ser
35 40 45

[0059]

Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Lys Gly Cys Trp Leu Asp Asp Phe Asn
50 55 60

Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Thr Glu Glu Asn Pro Gln Val
65 70 75 80

Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
85 90 95

Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
100 105 110

Ala Pro Thr
115

<210> 75
<211> 513
<212> PRT
<213> 智人

<400> 75

Met Gly Ala Ala Ala Lys Leu Ala Phe Ala Val Phe Leu Ile Ser Cys
1 5 10 15

Ser Ser Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe
20 25 30

Phe Asn Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu
35 40 45

Pro Cys Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp
50 55 60

Lys Asn Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu
65 70 75 80

Asp Asp Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp
85 90 95

Ser Pro Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu
100 105 110

[0060]

Lys Phe Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser Asn
115 120 125

Pro Val Thr Pro Lys Pro Pro Tyr Tyr Asn Ile Leu Leu Tyr Ser Leu
130 135 140

Val Pro Leu Met Leu Ile Ala Gly Ile Val Ile Cys Ala Phe Trp Val
145 150 155 160

Tyr Arg His His Lys Met Ala Tyr Pro Pro Val Leu Val Pro Thr Gln
165 170 175

Asp Pro Gly Pro Pro Pro Pro Ser Pro Leu Leu Gly Leu Lys Pro Leu
180 185 190

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

Ala Gln Leu Leu Asn Glu Tyr Val Ala Val Lys Ile Phe Pro Ile Gln
210 215 220

Asp	Lys	Gln	Ser	Trp	Gln	Asn	Glu	Tyr	Glu	Val	Tyr	Ser	Leu	Pro	Gly	225	230	235	240
Met	Lys	His	Glu	Asn	Ile	Leu	Gln	Phe	Ile	Gly	Ala	Glu	Lys	Arg	Gly	245	250	255	
Thr	Ser	Val	Asp	Val	Asp	Leu	Trp	Leu	Ile	Thr	Ala	Phe	His	Glu	Lys	260	265	270	
Gly	Ser	Leu	Ser	Asp	Phe	Leu	Lys	Ala	Asn	Val	Val	Ser	Trp	Asn	Glu	275	280	285	
Leu	Cys	His	Ile	Ala	Glu	Thr	Met	Ala	Arg	Gly	Leu	Ala	Tyr	Leu	His	290	295	300	
Glu	Asp	Ile	Pro	Gly	Leu	Lys	Asp	Gly	His	Lys	Pro	Ala	Ile	Ser	His	305	310	315	320
Arg	Asp	Ile	Lys	Ser	Lys	Asn	Val	Leu	Leu	Lys	Asn	Asn	Leu	Thr	Ala	325	330	335	
[0061]																			
Cys	Ile	Ala	Asp	Phe	Gly	Leu	Ala	Leu	Lys	Phe	Glu	Ala	Gly	Lys	Ser	340	345	350	
Ala	Gly	Asp	Thr	His	Gly	Gln	Val	Gly	Thr	Arg	Arg	Tyr	Met	Ala	Pro	355	360	365	
Glu	Val	Leu	Glu	Gly	Ala	Ile	Asn	Phe	Gln	Arg	Asp	Ala	Phe	Leu	Arg	370	375	380	
Ile	Asp	Met	Tyr	Ala	Met	Gly	Leu	Val	Leu	Trp	Glu	Leu	Ala	Ser	Arg	385	390	395	400
Cys	Thr	Ala	Ala	Asp	Gly	Pro	Val	Asp	Glu	Tyr	Met	Leu	Pro	Phe	Glu	405	410	415	
Glu	Glu	Ile	Gly	Gln	His	Pro	Ser	Leu	Glu	Asp	Met	Gln	Glu	Val	Val	420	425	430	
Val	His	Lys	Lys	Lys	Arg	Pro	Val	Leu	Arg	Asp	Tyr	Trp	Gln	Lys	His	435	440	445	

Ala Gly Met Ala Met Leu Cys Glu Thr Ile Glu Glu Cys Trp Asp His
450 455 460

Asp Ala Glu Ala Arg Leu Ser Ala Gly Cys Val Gly Glu Arg Ile Thr
465 470 475 480

Gln Met Gln Arg Leu Thr Asn Ile Ile Thr Thr Glu Asp Ile Val Thr
485 490 495

Val Val Thr Met Val Thr Asn Val Asp Phe Pro Pro Lys Glu Ser Ser
500 505 510

Leu

<210> 76
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

[0062]

<400> 76

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Ala Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 77
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 77

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Ala Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
 20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
 35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
 50 55 60

[0063] Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
 65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
 85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
 100 105

<210> 78
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 合成构建体

<400> 78

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
 1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Ala Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
 20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 79

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

[0064] <220>

<223> 合成构建体

<400> 79

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Ala Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 80
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 80

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Ala Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

[0065] Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 81
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 81

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Ala Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 82
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

[0066]

<220>
<223> 合成构建体

<400> 82

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Ala Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 83
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 83

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

[0067] Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Tyr Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 84
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 84

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Phe Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

[0068] <210> 85
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 85

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Ile Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 86
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 86

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

[0069] Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

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

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 87
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 87

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
 1 5 10 15
 Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
 20 25 30
 Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
 35 40 45
 Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Ala Asp Asp
 50 55 60
 Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
 65 70 75 80
 Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
 85 90 95
 Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
 100 105

[0070]

<210> 88
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 合成构建体
 <400> 88

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
 1 5 10 15
 Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
 20 25 30
 Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
 35 40 45
 Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Lys Asp
 50 55 60
 Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
 65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 89
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 89

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

[0071] Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Arg Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 90
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 90

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Ala Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

[0072] Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 91

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 91

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Phe Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 92
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 92

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

[0073]

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Gly Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 93
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 93

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Met Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

[0074]

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 94

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 94

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

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

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 95
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 95

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

[0075] Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Ile Asp
50 55 60

Ile Asn Cys Tyr Asp Arg Thr Asp Cys Val Glu Lys Lys Asp Ser Pro
65 70 75 80

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 96
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 96

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Phe Asn
1 5 10 15

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys
20 25 30

Tyr Gly Asp Lys Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Thr Trp Lys Asn
35 40 45

Ile Ser Gly Ser Ile Glu Ile Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp
50 55 60

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

Glu Val Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Met Cys Asn Glu Lys Phe
85 90 95

[0076]

Ser Tyr Phe Pro Glu Met Glu Val Thr Gln Pro Thr Ser
100 105

<210> 97

<211> 225

<212> PRT

<213> 智人

<400> 97

Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
1 5 10 15

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
20 25 30

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
35 40 45

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
50 55 60

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
65 70 75 80

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
85 90 95

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Val Pro Ile Glu Lys
100 105 110

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
115 120 125

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
130 135 140

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
145 150 155 160

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
165 170 175

[0077]

Asp Ser Asp Gly Pro Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
180 185 190

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
195 200 205

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
210 215 220

Lys
225

<210> 98

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 98

Gly Gly Gly Ala

1

<210> 99
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 99

Gly Gly Gly Ser
1

<210> 100
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 100

[0078] Gly Gly Gly Gly
1

<210> 101
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 101

Gly Gly Gly Gly Ala
1 5

<210> 102
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 102

Gly Gly Gly Gly Ser

1	5
	<210> 103 <211> 5 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 103 Gly Gly Gly Gly Gly 1 5
	<210> 104 <211> 4 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 104 Gly Gly Ala Gly 1
[0079]	<210> 105 <211> 4 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 105 Gly Gly Ser Gly 1
	<210> 106 <211> 4 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 106 Ala Gly Gly Gly

	1
	<210> 107 <211> 4 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 107 Ser Gly Gly Gly 1
	<210> 108 <211> 4 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 108
[0080]	Gly Ala Gly Ala 1 <210> 109 <211> 4 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 109 Gly Ser Gly Ser 1 <210> 110 <211> 6 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 110 Gly Ala Gly Ala Gly Ala

1	5
<210>	111
<211>	6
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	111
Gly Ser Gly Ser Gly Ser	
1	5
<210>	112
<211>	8
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	112
[0081] Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala	
1	5
<210>	113
<211>	8
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	113
Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser	
1	5
<210>	114
<211>	10
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	114
Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala	

	1	5	10
	<210>	115	
	<211>	10	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成构建体	
	<400>	115	
	Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser		
	1	5	10
	<210>	116	
	<211>	12	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成构建体	
	<400>	116	
[0082]	Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala Gly Ala		
	1	5	10
	<210>	117	
	<211>	12	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成构建体	
	<400>	117	
	Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser		
	1	5	10
	<210>	118	
	<211>	6	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成构建体	
	<400>	118	
	Gly Gly Ala Gly Gly Ala		

1	5
<210>	119
<211>	6
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	119
Gly Gly Ser Gly Gly Ser	
1	5
<210>	120
<211>	9
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	120
[0083] Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala	
1	5
<210>	121
<211>	9
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	121
Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser	
1	5
<210>	122
<211>	12
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	122
Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala	

	1	5	10
	<210>	123	
	<211>	12	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成构建体	
	<400>	123	
	Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser		
	1	5	10
	<210>	124	
	<211>	8	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成构建体	
	<400>	124	
[0084]	Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly		
	1	5	
	<210>	125	
	<211>	8	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成构建体	
	<400>	125	
	Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly		
	1	5	
	<210>	126	
	<211>	12	
	<212>	PRT	
	<213>	人工序列	
	<220>		
	<223>	合成构建体	
	<400>	126	
	Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly		

	1	5	10
	<210> 127 <211> 12 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 127 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly 1 5 10		
	<210> 128 <211> 15 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 128 Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ala 1 5 10 15		
[0085]	<210> 129 <211> 15 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 129 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser 1 5 10 15		
	<210> 130 <211> 5 <212> PRT <213> 人工序列 <220> <223> 合成构建体 <400> 130 Gly Gly Gly Ala Gly		

1	5
<210>	131
<211>	6
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	131
Gly Gly Gly Ala Gly Gly	
1	5
<210>	132
<211>	7
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	132
[0086] Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly	
1	5
<210>	133
<211>	4
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	133
Ala Ala Ala Leu	
1	
<210>	134
<211>	4
<212>	PRT
<213>	人工序列
<220>	
<223>	合成构建体
<400>	134
Ala Ala Ala Lys	

1

<210> 135
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 135

Ala Ala Ala Arg
1

<210> 136
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 136

[0087] Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr
1 5 10

<210> 137
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 137

Gly Ser Ala Gly Ser Ala Ala Gly Ser Gly Glu Phe
1 5 10

<210> 138
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 138

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

1 5 10

<210> 139
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 139

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

Leu Asp

<210> 140
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

[0088] <220>
<223> 合成构建体

<400> 140

Gly Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser Gly Gly
1 5 10

<210> 141
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 141

Ser Ala Cys Tyr Cys Glu Leu Ser
1 5

<210> 142
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 142

Arg Ser Ile Ala Thr
1 5

<210> 143

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 143

Arg Pro Ala Cys Lys Ile Pro Asn Asp Leu Lys Gln Lys Val Met Asn
1 5 10 15

His

<210> 144

<211> 36

<212> PRT

[0089] <213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 144

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

Gly Ala Ser Gly Thr Gly Thr Ala Gly Gly Thr Gly Ser Gly Ser Gly
20 25 30

Thr Gly Ser Gly
35

<210> 145

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成构建体

<400> 145

Ala Ala Ala Asn Ser Ser Ile Asp Leu Ile Ser Val Pro Val Asp Ser
1 5 10 15

Arg

<210> 146
<211> 36
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 146

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

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

[0090] Gly Gly Gly Ser
35

<210> 147
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 147

Glu Ala Ala Ala Lys
1 5

<210> 148
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 148

Pro Ala Pro Ala Pro

1 5

<210> 149
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 149

Gly Arg Gly Glu Ala Glu Thr Arg Glu Cys Ile Phe Tyr Asn Ala Asn
1 5 10 15

Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Ser Gly Leu Glu Pro Cys Tyr Gly
20 25 30

Asp Gln Asp Lys Arg Arg His Cys Phe Ala Ser Trp Lys Asn Ser Ser
35 40 45

Gly Thr Ile Glu Leu Val Lys Gln Gly Cys Trp Leu Asp Asp Ile Asn
50 55 60

[0091]

Cys Tyr Asp Arg Gln Glu Cys Val Ala Lys Lys Asp Ser Pro Glu Val
65 70 75 80

Tyr Phe Cys Cys Cys Glu Gly Asn Phe Cys Asn Glu Arg Phe Thr His
85 90 95

Leu Pro Glu Ala Gly Gly Pro Glu Val Thr Tyr Glu Pro Pro Pro Thr
100 105 110

Ala Pro Thr
115

<210> 150
<211> 109
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 150

Gly Ala Ile Leu Gly Arg Ser Glu Thr Gln Glu Cys Leu Phe Tyr Asn

1	5	10	15
Ala Asn Trp	Glu Leu Glu Arg Thr	Asn Gln Thr Gly Val	Glu Arg Cys
	20	25	30
Glu Gly Glu	Lys Asp Lys Arg	Leu His Cys Tyr Ala	Thr Trp Arg Asn
	35	40	45
Ile Ser Gly	Ser Ile Glu Ile Val	Ala Lys Gly Cys	Trp Leu Asp Asp
	50	55	60
Phe Asn Cys	Tyr Asp Arg Thr	Asp Cys Val Glu	Thr Glu Glu Asn Pro
	65	70	75
Gln Val Tyr	Phe Cys Cys Cys	Glu Gly Asn Met	Cys Asn Glu Lys Phe
	85	90	95
Ser Tyr Phe	Pro Glu Met Glu	Val Thr Gln Pro	Thr Ser
	100	105	

[0092]

<210> 151
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 151

Met Glu Trp	Ser Trp Val Phe	Leu Phe Phe	Leu Ser Val	Thr Thr Gly
1	5	10		15
Val His Ser	Asp Lys Thr His	Thr Cys Pro	Pro Cys Pro	Ala Pro Glu
	20	25		30
Leu Leu Gly	Gly Pro Ser Val	Phe Leu Phe	Pro Pro Lys	Pro Lys Asp
	35	40		45
Thr Leu Met	Ile Ser Arg Thr	Pro Glu Val	Thr Cys Val	Val Val Asp
	50	55		60
Val Ser His	Glu Asp Pro Glu	Val Lys Phe	Asn Trp Tyr	Val Asp Gly
	65	70		80
Val Glu Val	His Asn Ala Lys	Thr Lys Pro	Arg Glu Glu	Gln Tyr Asn
	85	90		95

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
100 105 110

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
115 120 125

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
130 135 140

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
145 150 155 160

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
165 170 175

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
180 185 190

[0093] Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
195 200 205

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
210 215 220

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
225 230 235 240

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
245

<210> 152
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成构建体

<400> 152

Asp Ile Cys Leu Pro Arg Trp Gly Cys Leu Trp
1 5 10

<210> 153
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 153

Gly Pro Val Glu Val Phe Ile Thr Glu Thr Pro Ser Gln Pro Asn Ser
 1 5 10 15

His Pro Ile Gln Trp Asn Ala Pro Gln Pro Ser His Ile Ser Lys Tyr
 20 25 30

Ile Leu Arg Trp Arg Pro Lys Asn Ser Val Gly Arg Trp Lys Glu Ala
 35 40 45

Thr Ile Pro Gly His Leu Asn Ser Tyr Thr Ile Lys Gly Leu Lys Pro
 50 55 60

Gly Val Val Tyr Glu Gly Gln Leu Ile Ser Ile Gln Gln Tyr Gly His
 65 70 75 80

[0094] Gln Glu Val Thr Arg Phe Asp Phe Thr Thr Thr Ser Thr
 85 90

<210> 154
 <211> 609
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 154

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala
 1 5 10 15

Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala
 20 25 30

His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu
 35 40 45

Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val
 50 55 60

Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp
 65 70 75 80

Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp
85 90 95

Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala
100 105 110

Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln
115 120 125

His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val
130 135 140

Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys
145 150 155 160

Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro
165 170 175

Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys
180 185 190

[0095]

Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu
195 200 205

Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys
210 215 220

Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val
225 230 235 240

Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser
245 250 255

Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly
260 265 270

Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile
275 280 285

Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu
290 295 300

Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp
305 310 315 320

Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser
325 330 335

Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly
340 345 350

Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val
355 360 365

Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys
370 375 380

Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu
385 390 395 400

Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
405 410 415

[0096]

Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
420 425 430

Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
435 440 445

Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
450 455 460

Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
465 470 475 480

Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
485 490 495

Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
500 505 510

Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
515 520 525

Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
530 535 540

Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
545 550 555 560

Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
565 570 575

Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
580 585 590

[0097] Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
595 600 605

Leu

<210> 155
<211> 6
<212> PRT
<213> 智人

<400> 155

Asn Pro Val Thr Pro Lys
1 5

[illegible]

图 1

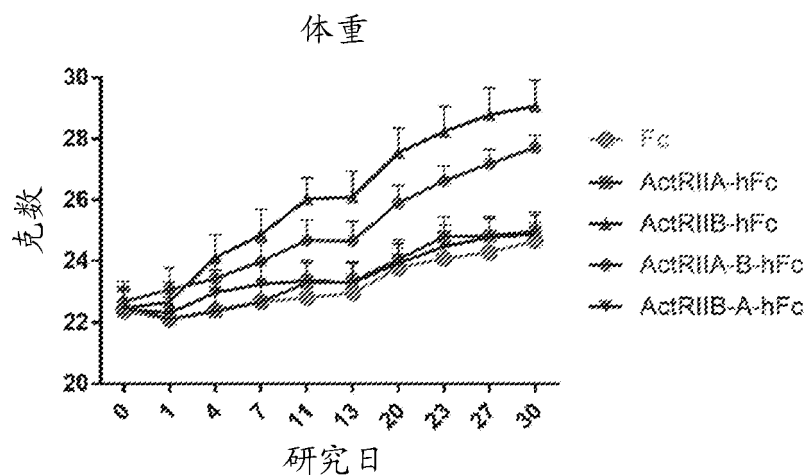


图 2A

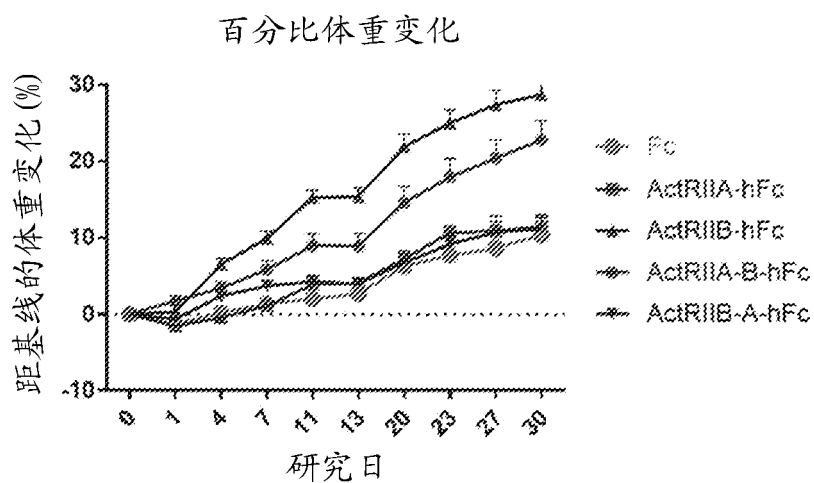


图 2B

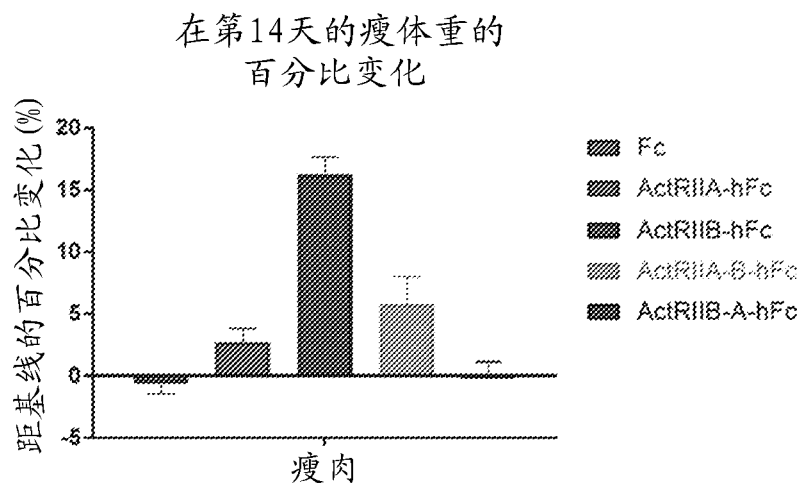


图 3A

在第28天的瘦体重的
百分比变化

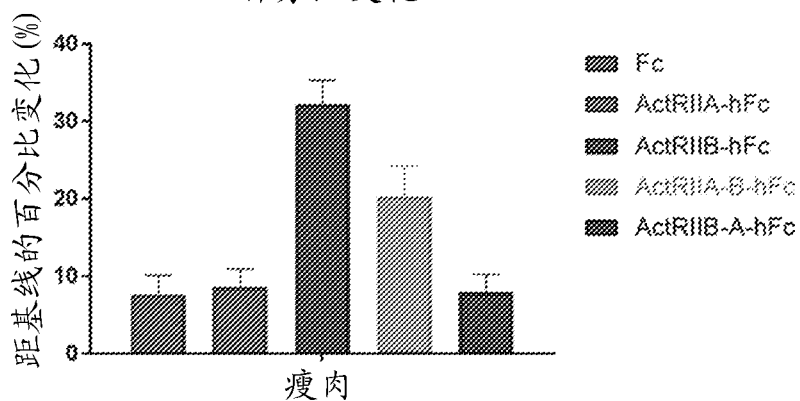
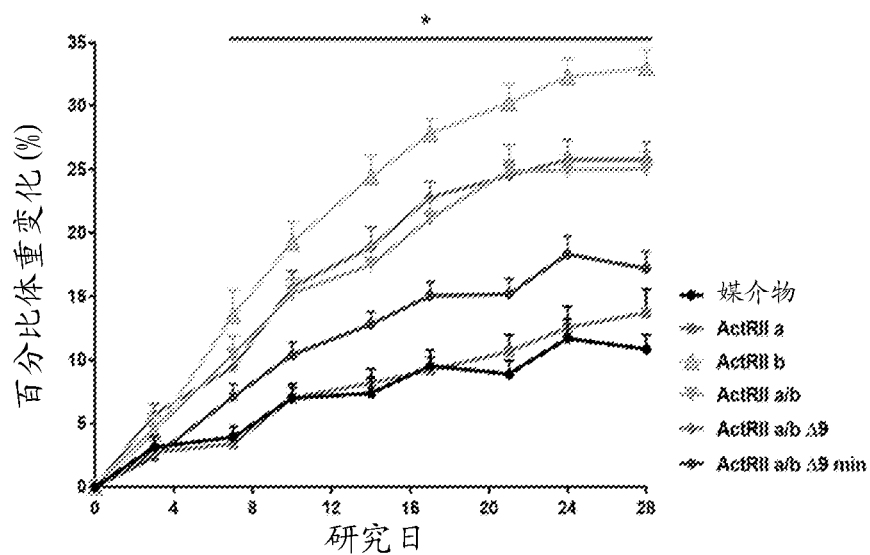


图 3B

百分比体重变化
(与基线相比)



*对于ActRIIb、ActRIIa/b、ActRIIa/b Δ9和
ActRIIa/b Δ9min, 在D9开始并继续至D28, $p < 0.05$

图 4A

第28天组织重量

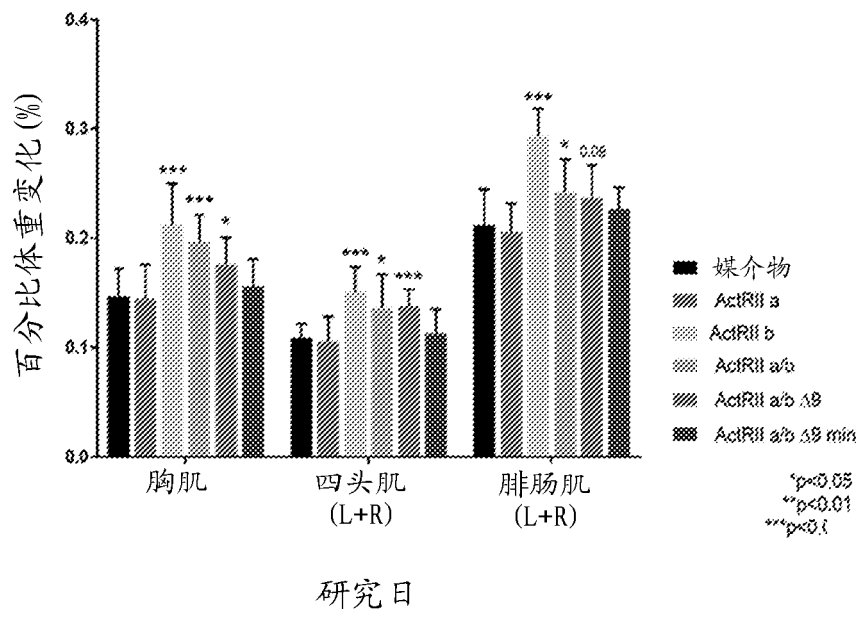


图 4B

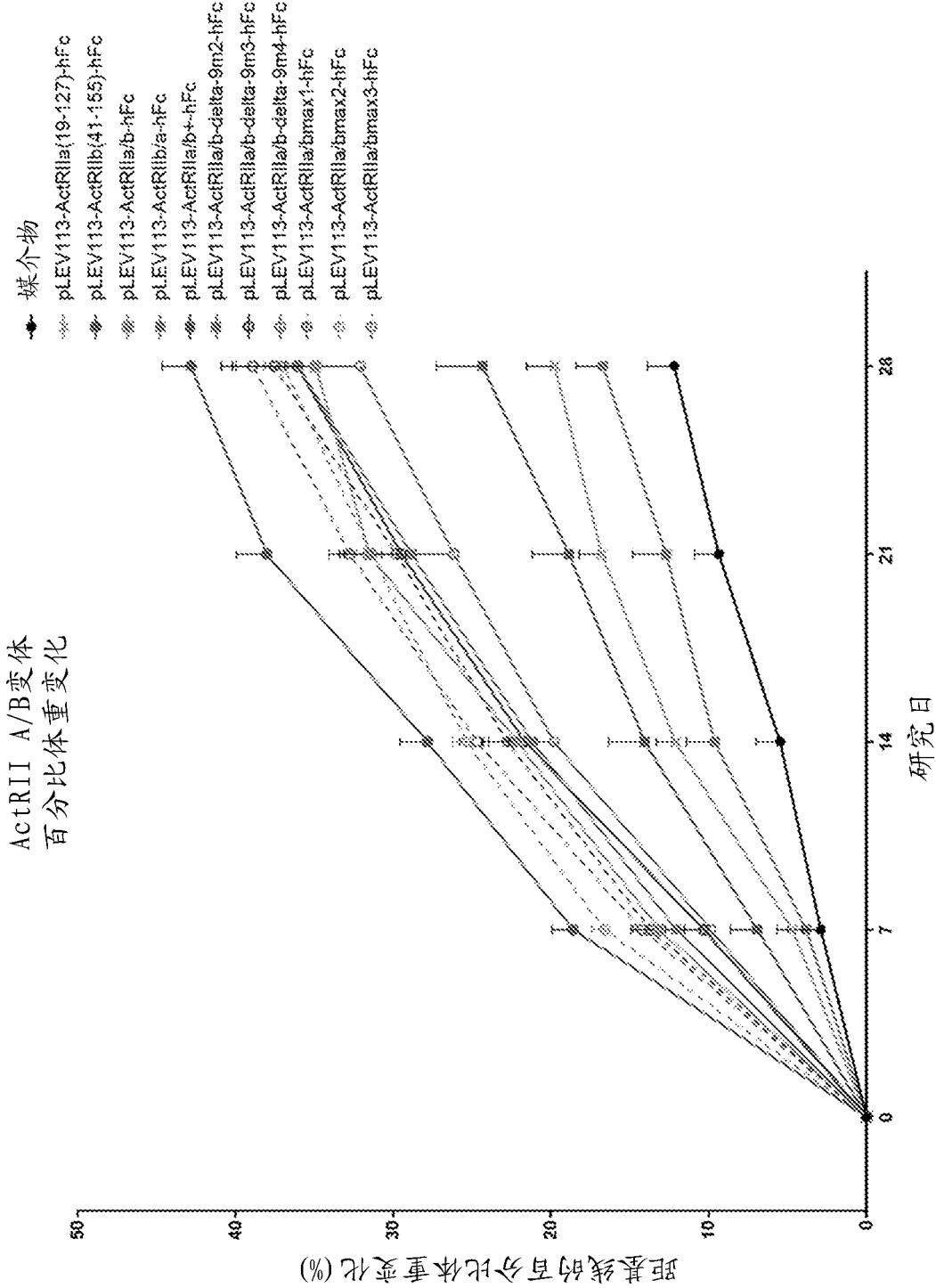


图 5A

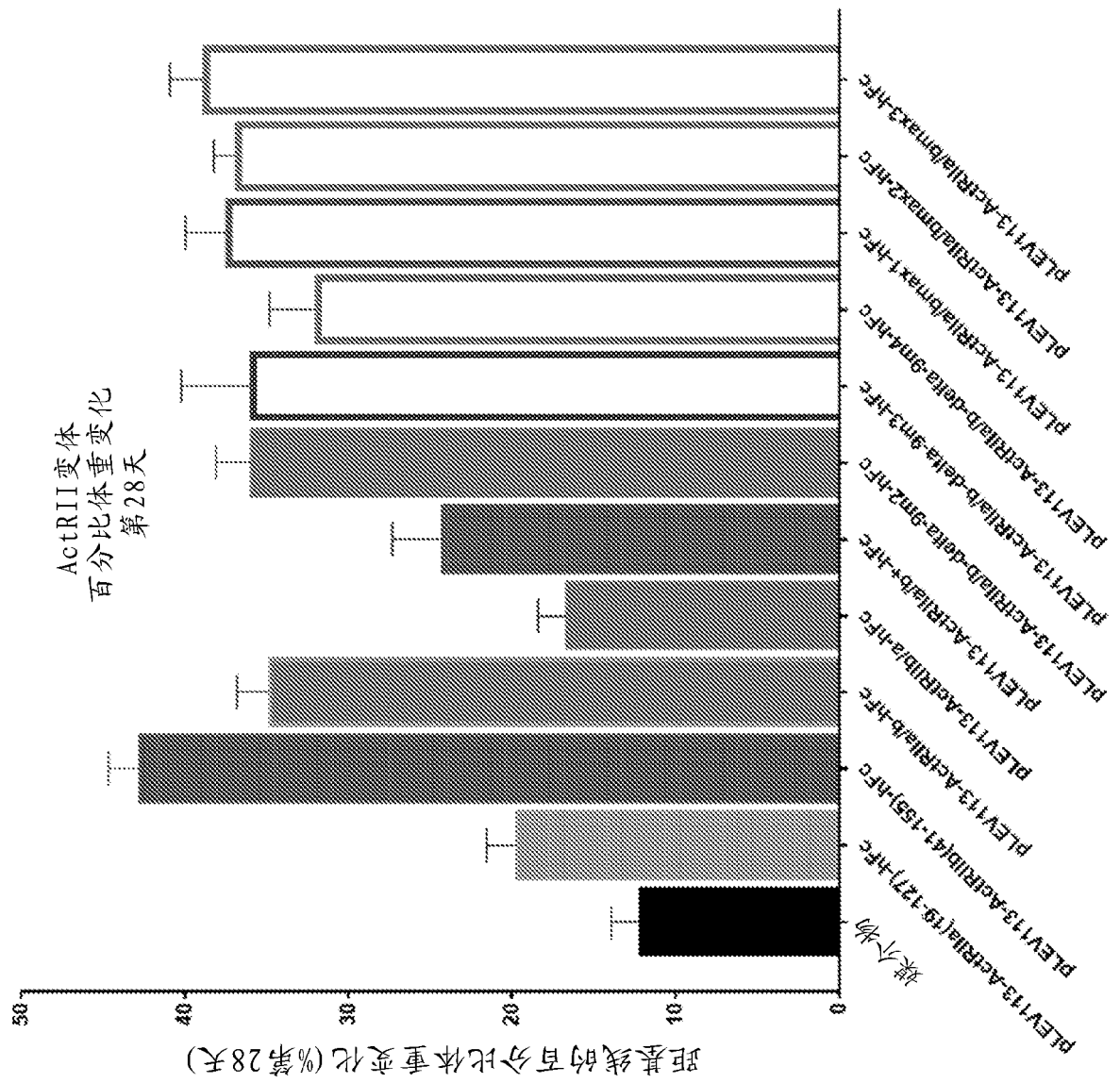


图 5B

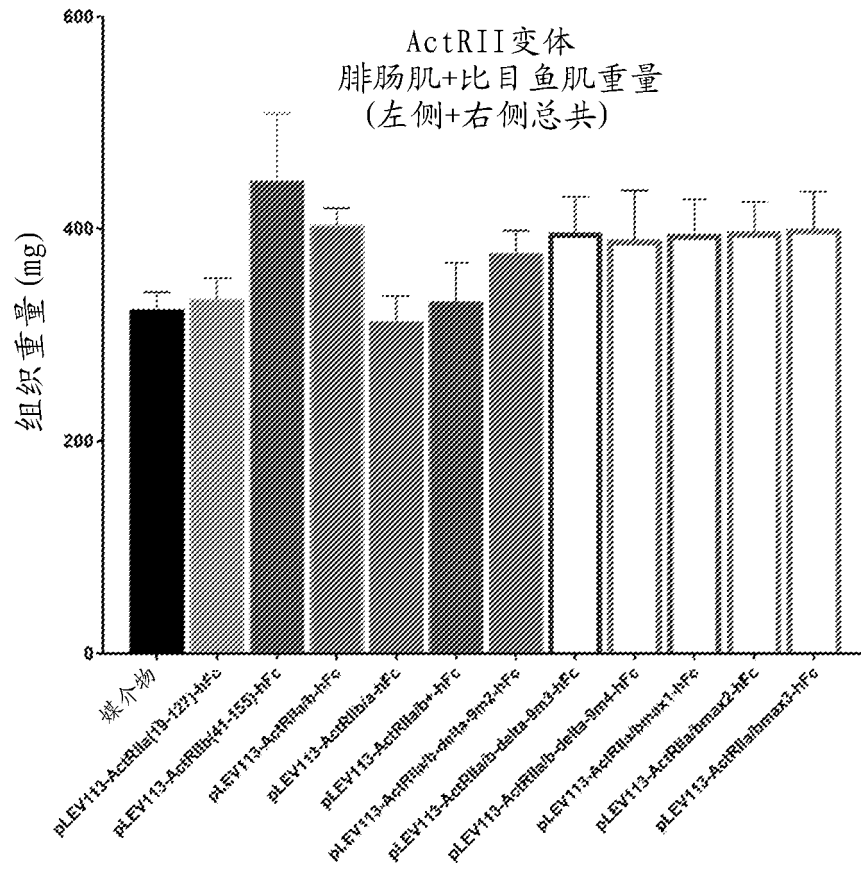


图 6A

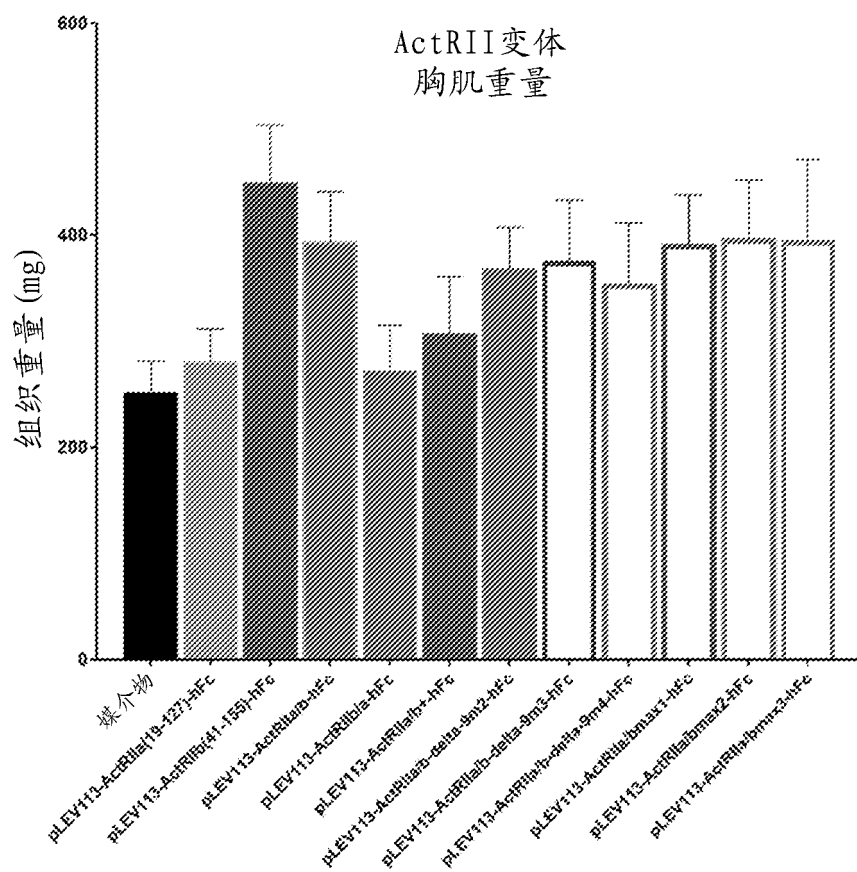


图 6B

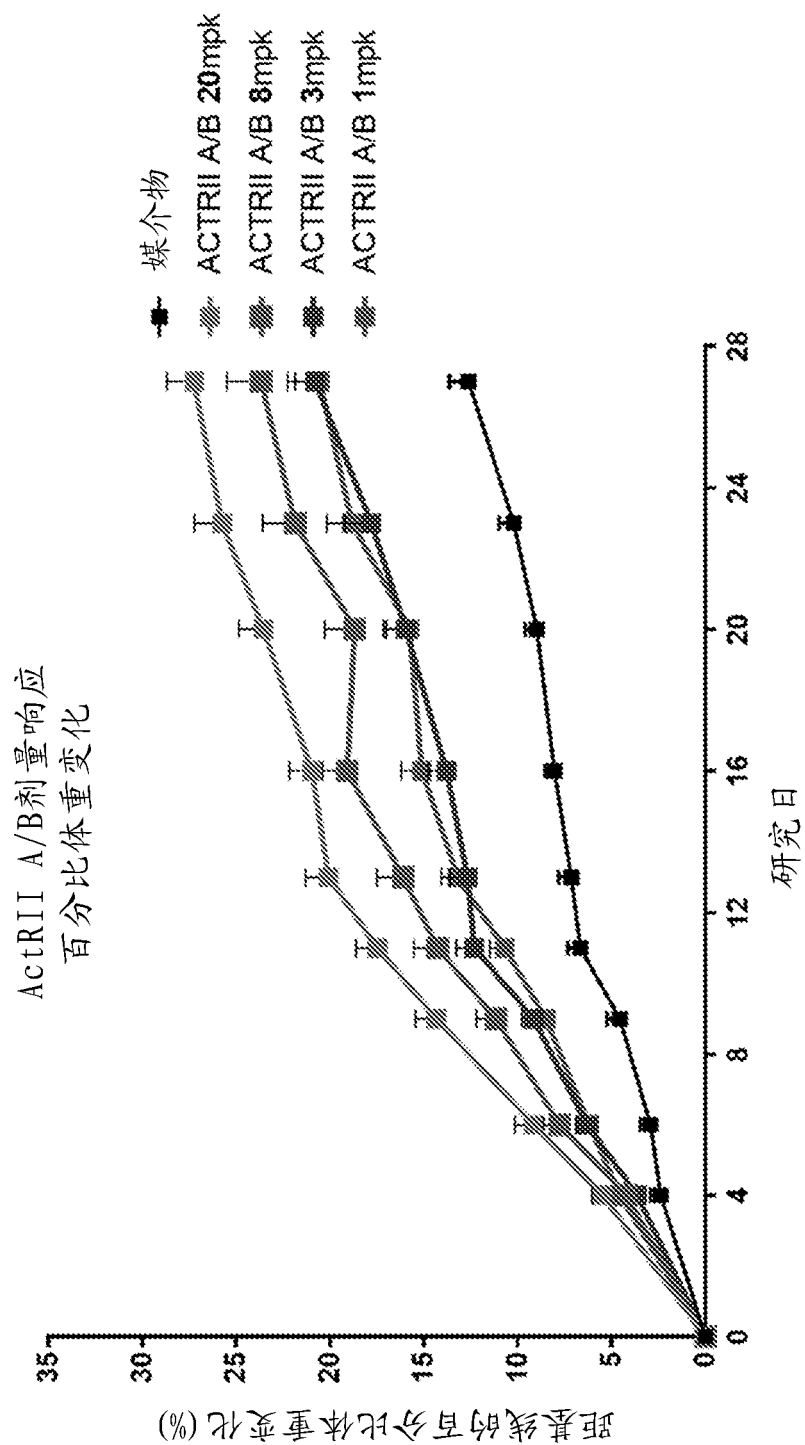


图 7A

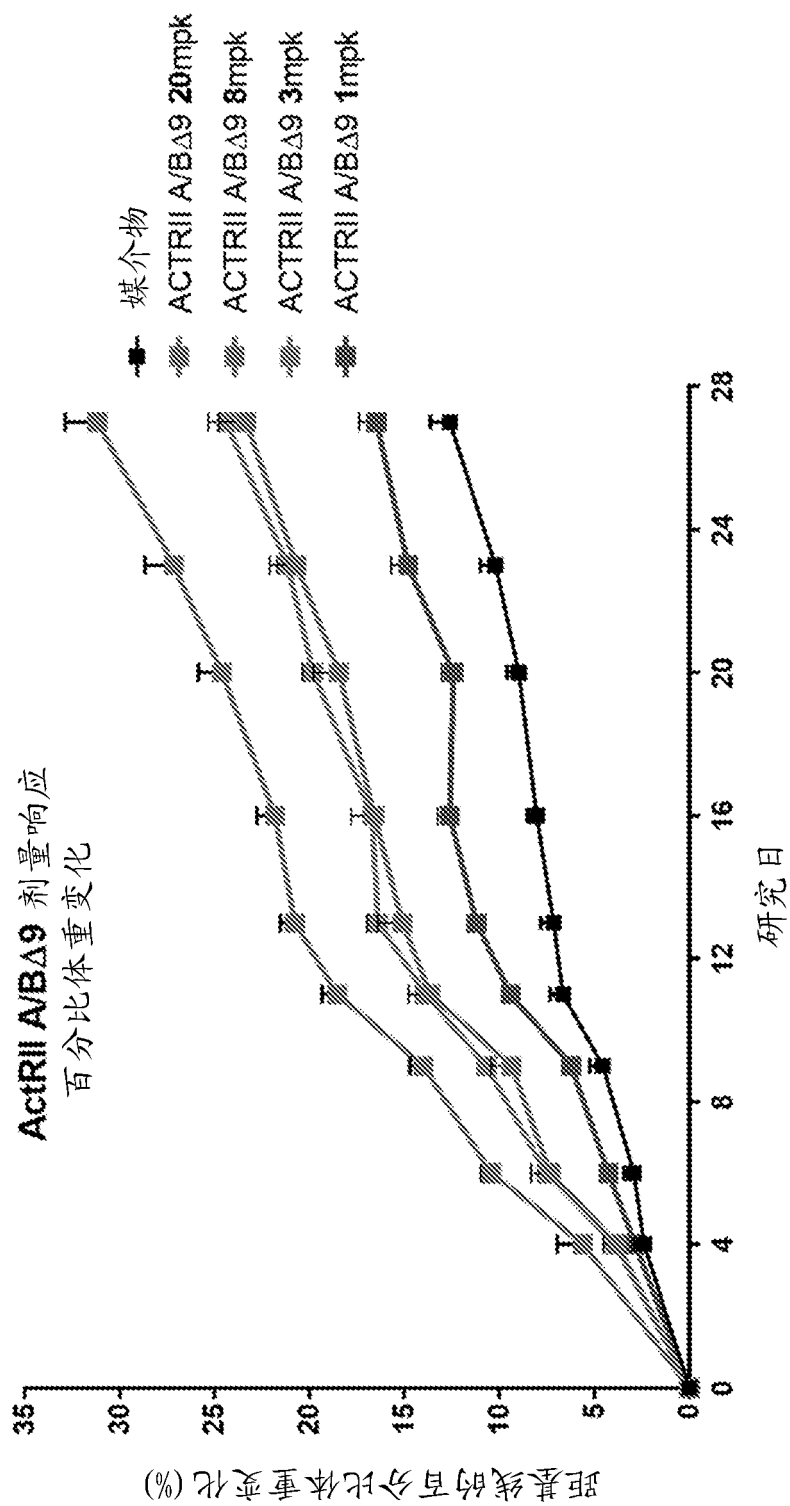


图 7B

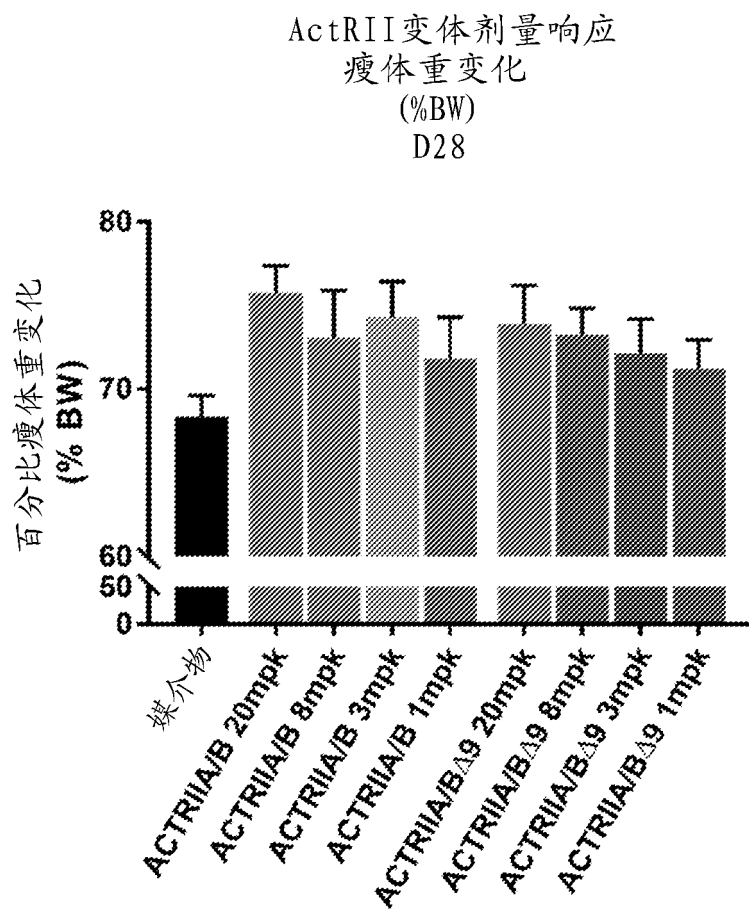


图 8A

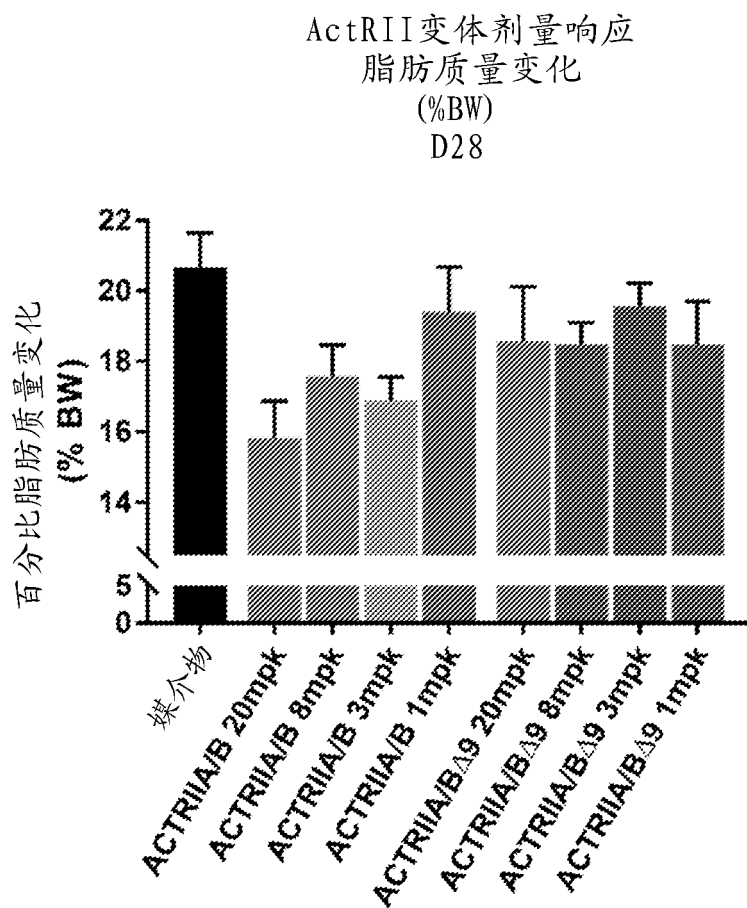


图 8B

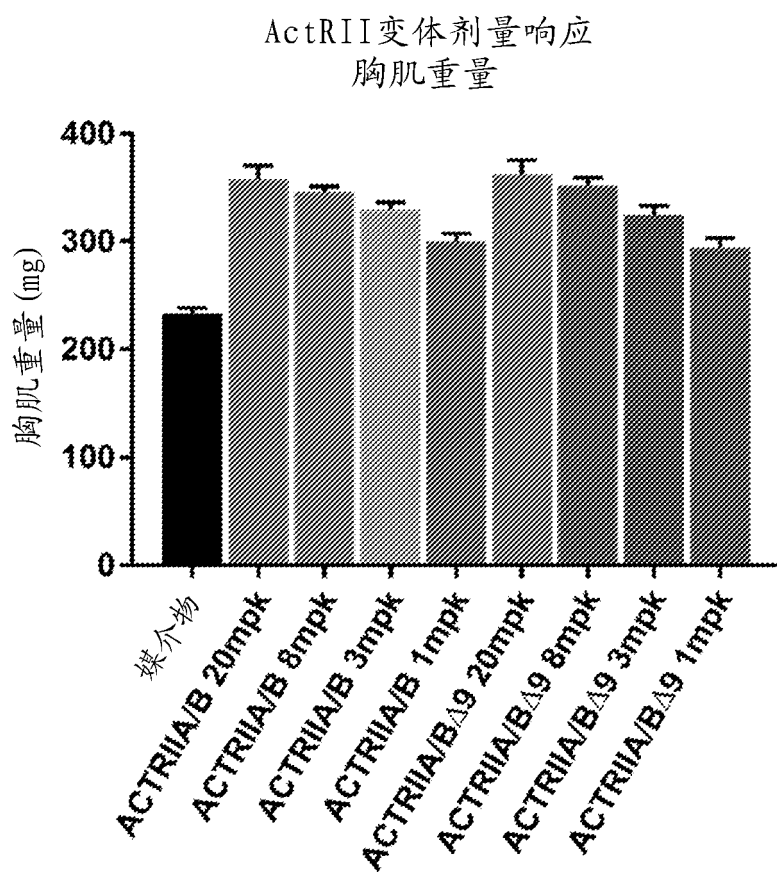


图 9A

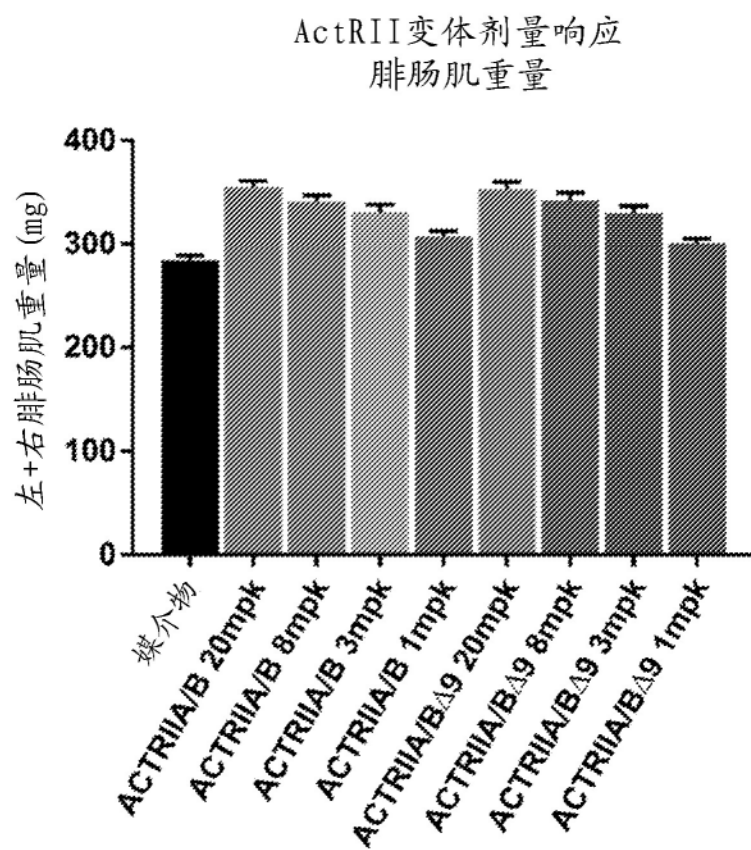


图 9B