



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 110461349 B

(45) 授权公告日 2024.08.13

(21) 申请号 201780082824.X

(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

(72) 发明人 J.S. 西拉 J. 拉基

申请公布号 CN 110461349 A

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
司 72001

(43) 申请公布日 2019.11.15

专利代理人 甘霖 黄希贵

(30) 优先权数据

(51) Int.CI.

62/420476 2016.11.10 US

A61K 38/00 (2006.01)

62/531943 2017.07.13 US

A61K 38/17 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

A61K 38/18 (2006.01)

2019.07.09

(56) 对比文件

(86) PCT国际申请的申请数据

US 2006068468 A1, 2006.03.30

PCT/US2017/060970 2017.11.09

审查员 张希兰

(87) PCT国际申请的公布数据

权利要求书1页 说明书37页

WO2018/089715 EN 2018.05.17

序列表97页 附图1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来治疗涉及骨损伤的疾病和病况、例如原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的药物组合物和方法。

1. 多肽、编码所述多肽的多核苷酸或包含所述多核苷酸的载体在制备药物中的用途，所述药物用于增加有此需要的受试者中的骨矿物质密度，所述多肽由GAILGRSETQECLFYNA NWELETNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIVKKGCW LDDFN CYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMC NEKFSYFPEMEVTQPTS (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. 根据权利要求1的多肽、多核苷酸或载体的用途，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. 根据权利要求1或2的多肽、多核苷酸或载体的用途，其中所述多肽是同二聚体的形式。

4. 根据权利要求1或2的多肽、多核苷酸或载体的用途，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) 、GGGGAGGGAGGGGA (SEQ ID NO:128) 、GGGGSGGGSGGGGS (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) 、AEAAAKEAAAKA (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) 、GGSAGGSGSGSSGGSGASGTGTAGGTGSGSGTGSG (SEQ ID NO:144) 、AAANSSIDLISVPVDSR (SEQ ID NO:145) 、GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSGGGGS (SEQ ID NO:146) 、EAAAK (SEQ ID NO:147) 或PAPAP (SEQ ID NO:148) 的氨基酸序列。

5. 根据权利要求1或2的多肽、多核苷酸或载体的用途，其中所述Fc结构域单体是人IgG1Fc结构域单体。

## 激活素受体IIA型变体及其使用方法

[0001] 发明背景

[0002] 健康骨骼经历涉及骨骼破坏和骨骼生长的不断重塑。骨生长由成骨细胞类型介导,而破骨细胞吸收骨。当这些系统通过合成代谢程序的下调、分解代谢系统的上调或两者的组合失去平衡时,发生病理学,导致净骨损失。因此,控制骨重塑中的平衡可用于促进骨折愈合和对骨骼的其他损伤,以及治疗与骨量损失和骨矿质化相关的病症、诸如骨质疏松症。

[0003] 骨损伤可以由一系列根本原因(包括年龄或癌症相关的骨损失、遗传状况、药物治疗的不良副作用或骨折)引起。世界卫生组织估计,骨质疏松症仅在美国、欧洲和日本就影响7500万人,并且是骨折的重要危险因素。通常,整个骨损失代表有效治疗很少的病理状态。相反,治疗聚焦于固定、运动和饮食调整,而不是直接促进骨骼生长和增加骨密度的药剂。关于骨质疏松症,雌激素、降钙素、骨钙素与维生素K或高剂量的膳食钙都用作治疗干预。骨质疏松症的其他治疗方法包括双膦酸盐、甲状旁腺激素、甲状旁腺激素相关蛋白(PTHrP)拟钙剂、他汀类、合成代谢类固醇、镧和锶盐以及氟化钠。然而,此类治疗剂经常与不希望的副作用相关。对于导致骨损伤或骨脱矿质作用的疾病,需要新型且有效的治疗方法。

[0004] 发明概述

[0005] 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。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骨量或骨矿物质密度,所述受试者具有涉及骨损伤的疾病或病况,例如原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动。进一步,本发明的多肽还可用于影响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,所述受试者具有发展涉及骨损伤或骨脱矿质作用的疾病或病况的风险或具有涉及骨损伤或骨脱矿质作用的疾病或病况。

[0006] 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:

[0007] GAILGRSETQECLX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>NANWX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>TNQGTGVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>HGX<sub>15</sub>ATWX<sub>16</sub>NISGSI  
EIVX<sub>17</sub>X<sub>18</sub>GCX<sub>19</sub>X<sub>20</sub>X<sub>21</sub>DX<sub>22</sub>NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>X<sub>24</sub>X<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ  
ID NO:1),其中X<sub>1</sub>是F或Y;X<sub>2</sub>是F或Y;X<sub>3</sub>是E或A;X<sub>4</sub>是K或L;X<sub>5</sub>是D或E;X<sub>6</sub>是R或A;X<sub>7</sub>是P或R;X<sub>8</sub>是  
Y或E;X<sub>9</sub>是D或E;X<sub>10</sub>是K或Q;X<sub>11</sub>是D或A;X<sub>12</sub>是K或A;X<sub>13</sub>是R或A;X<sub>14</sub>是R或L;X<sub>15</sub>是F或Y;X<sub>16</sub>是K、R  
或A;X<sub>17</sub>是K、A、Y、F或I;X<sub>18</sub>是Q或K;X<sub>19</sub>是W或A;X<sub>20</sub>是L或A;X<sub>21</sub>是D、K、R、A、F、G、M、N或I;X<sub>22</sub>是  
I、F或A;X<sub>23</sub>是K或T;X<sub>24</sub>是K或E;X<sub>25</sub>是D或E;X<sub>26</sub>是S或N;且X<sub>27</sub>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。

[0008] 在一些实施方案中,所述变体具有以下序列:

[0009] GAILGRSETQECLFX<sub>2</sub>NANWX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>TNQTGVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>KX<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>HCX<sub>15</sub>ATWX<sub>16</sub>NISGSIEIVKX<sub>18</sub>G  
VX<sub>17</sub>X<sub>18</sub>GCX<sub>19</sub>X<sub>20</sub>X<sub>21</sub>DX<sub>22</sub>NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>X<sub>24</sub>X<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO:2) ,其中X<sub>2</sub>、X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub>、X<sub>5</sub>、X<sub>6</sub>、X<sub>7</sub>、X<sub>8</sub>、X<sub>9</sub>、X<sub>11</sub>、X<sub>12</sub>、X<sub>13</sub>、X<sub>14</sub>、X<sub>15</sub>、X<sub>16</sub>、X<sub>17</sub>、X<sub>18</sub>、X<sub>19</sub>、X<sub>20</sub>、X<sub>21</sub>、X<sub>22</sub>、X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>、X<sub>26</sub>和X<sub>27</sub>如上所定义。

[0010] 在一些实施方案中,所述变体具有以下序列:

[0011] GAILGRSETQECLFX<sub>2</sub>NANWEX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>RTNQTGVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>KDKRX<sub>14</sub>HCX<sub>15</sub>ATWX<sub>16</sub>NISGSIEIVKX<sub>18</sub>G  
CWLDDX<sub>22</sub>NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>X<sub>24</sub>X<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO:3) ,其中X<sub>2</sub>、X<sub>4</sub>、X<sub>5</sub>、X<sub>7</sub>、X<sub>8</sub>、X<sub>9</sub>、X<sub>14</sub>、X<sub>15</sub>、X<sub>16</sub>、X<sub>18</sub>、X<sub>22</sub>、X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>、X<sub>26</sub>和X<sub>27</sub>如上所定义。

[0012] 在一些实施方案中,所述变体具有以下序列:

[0013] GAILGRSETQECLFX<sub>2</sub>NANWEX<sub>4</sub>DRTNQTGVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>KDKRX<sub>14</sub>HCX<sub>15</sub>ATWX<sup>16</sup>NISGSIEIVKX<sub>18</sub>G  
CWLDDX<sub>22</sub>NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>KX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO:4) ,其中X<sub>2</sub>、X<sub>4</sub>、X<sub>7</sub>、X<sub>8</sub>、X<sub>9</sub>、X<sub>14</sub>、X<sub>15</sub>、X<sup>16</sup>、X<sub>18</sub>、X<sub>22</sub>、X<sub>23</sub>、X<sub>25</sub>、X<sub>26</sub>和X<sub>27</sub>如上所定义。

[0014] 在一些实施方案中,所述变体具有以下序列:

[0015] GAILGRSETQECLFX<sub>2</sub>NANWEX<sub>4</sub>DRTNQTGVEPCX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>KDKRX<sub>14</sub>HCFATWKNISGSIEIVKX<sub>18</sub>GCWL  
DINCYDRTDCVEX<sub>23</sub>KX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO:5) ,其中X<sub>2</sub>、X<sub>4</sub>、X<sub>8</sub>、X<sub>9</sub>、X<sub>14</sub>、X<sub>18</sub>、X<sub>23</sub>、X<sub>25</sub>、X<sub>26</sub>和X<sub>27</sub>如上所定义。

[0016] 在任何前述实施方案中,X<sub>1</sub>是F或Y。在任何前述实施方案中,X<sub>2</sub>是F或Y。在任何前述实施方案中,X<sub>3</sub>是E或A。在任何前述实施方案中,X<sub>4</sub>是K或L。在任何前述实施方案中,X<sub>5</sub>是D或E。在任何前述实施方案中,X<sub>6</sub>是R或A。在任何前述实施方案中,X<sub>7</sub>是P或R。在任何前述实施方案中,X<sub>8</sub>是Y或E。在任何前述实施方案中,X<sub>9</sub>是D或E。在任何前述实施方案中,X<sub>10</sub>是K或Q。在任何前述实施方案中,X<sub>11</sub>是D或A。在任何前述实施方案中,X<sub>12</sub>是K或A。在任何前述实施方案中,X<sub>13</sub>是R或A。在任何前述实施方案中,X<sub>14</sub>是R或L。在任何前述实施方案中,X<sub>15</sub>是F或Y。在任何前述实施方案中,X<sub>16</sub>是K、R或A。在任何前述实施方案中,X<sub>17</sub>是K、A、Y、F或I。在任何前述实施方案中,X<sub>18</sub>是Q或K。在任何前述实施方案中,X<sub>19</sub>是W或A。在任何前述实施方案中,X<sub>20</sub>是L或A。在任何前述实施方案中,X<sub>21</sub>是D、K、R、A、F、G、M、N或I。在任何前述实施方案中,X<sub>22</sub>是I、F或A。在任何前述实施方案中,X<sub>23</sub>是K或T。在任何前述实施方案中,X<sub>24</sub>是K或E。在任何前述实施方案中,X<sub>25</sub>是D或E。在任何前述实施方案中,X<sub>26</sub>是S或N。在任何前述实施方案中,X<sub>27</sub>是E或Q。在任何前述实施方案中,X<sub>23</sub>是T,X<sub>24</sub>是E,X<sub>25</sub>是E,且X<sub>26</sub>是N,或者X<sub>23</sub>是T,X<sub>24</sub>是K,X<sub>25</sub>是E,且X<sub>26</sub>是N。在任何前述实施方案中,X<sub>17</sub>是K。

[0017] 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。

[0018] 在任何前述实施方案中,位置X<sub>24</sub>处的氨基酸可以用氨基酸K替代。

[0019] 在任何前述实施方案中,位置X<sub>24</sub>处的氨基酸可以用氨基酸E替代。

[0020] 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、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)。

[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与多肽的C-末端融合或共价连接的部分。所述部分可以增加多肽的稳定性或改善多肽的药代动力学特性。在一些

实施方案中,所述部分是Fc结构域单体、Fc结构域、白蛋白结合肽、纤连蛋白结构域或血清白蛋白。

[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。

[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。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。

[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-末端融合的白蛋白结合肽。在一些实施方案中,所述白蛋白结合肽具有SEQ ID NO:152的序列。

[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。

[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。

[0027] 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)。

[0028] 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)、GGGGAGGGAGGGGA (SEQ ID NO:128)、GGGGSGGGSGGGGS (SEQ ID NO:129)、AAAL (SEQ ID NO:133)、AAAK (SEQ ID NO:134)、AAAR (SEQ ID NO:135)、EGKSSGSGSEKST (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)、RPACKIPNDLKQKVNMH (SEQID NO:143)、GGSAGGS GSGSSGGSSGASGTGIAGGTGSGSGTGSG (SEQ ID NO:144)、AAANSSIDLISVPVDSR (SEQ ID NO:

145)、GGSGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGSEGGGS (SEQ ID NO:146)、EAAAK (SEQ ID NO:147) 或PAPAP (SEQ ID NO:148)。

[0029] 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。

[0030] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽以200pM或更高的K<sub>D</sub>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。

[0031] 在任何前述实施方案中,本文所述的多肽以800pM或更低的K<sub>D</sub>结合人激活素A。

[0032] 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<sub>D</sub>结合人激活素B。

[0033] 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<sub>D</sub>结合人GDF-11。

[0034] 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。

[0035] 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。

[0036] 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。

[0037] 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。

[0038] 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。

[0039] 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,本发明的特征在于增加有此需要的受试者中的骨矿物质密度的方法。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。

[0041] 在另一个方面,本发明的特征在于减少有此需要的受试者中的骨吸收的方法。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骨形成的方法。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。

[0043] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述患者具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失。

[0044] 在另一个方面,本发明的特征在于影响具有涉及骨损伤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,所述疾病或病况是原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失。

[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原发性骨质疏松症的受试者的方法。

[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继发性骨质疏松症的受试者的方法。

[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骨质减少症的受试者的方法。

[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治疗具有骨折的受试者的方法。

[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治疗具有骨癌或癌症转移相关的骨损失的受试者的方法。

[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治疗具有佩吉特氏病的受试者的方法。

[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治疗具有肾性骨营养不良的受试者的方法。

[0052] 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治疗相关的骨损失的受试者的方法。

[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治疗具有饮食相关的骨损失的受试者的方法。

[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具有与肥胖治疗相关的骨损失的受试者的方法。

[0055] 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低重力相关的骨损失的受试者的方法。

[0056] 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不动相关的骨损失的受试者的方法。

[0057] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述原发性骨质疏松症是年龄相关的骨质疏松症。

[0058] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述原发性骨质疏松症是激素相关的骨质疏松症。

[0059] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述继发性骨质疏松症是固定诱导的骨质疏松症。

[0060] 在任何上述方面的一些实施方案中,其中所述继发性骨质疏松症是糖皮质激素诱导的骨质疏松症。

[0061] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述癌症是多发性骨髓瘤。

[0062] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述治疗是FGF-21治疗。

[0063] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述治疗是GLP-1治疗。

[0064] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述治疗是癌症疗法。

[0065] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述治疗是肥胖症和/或2型糖尿病的治疗。

[0066] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述饮食相关的骨损失是佝偻病。

[0067] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法增加受试者中的骨形成。在任何上述方面的一些实施方案中,其中所述方法减少受试者中的骨吸收。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法增加成骨细胞活性或成骨细胞生成。在任何上述方面的一些实施方案中,所述方法减少破骨细胞活性或减少破骨细胞生成。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。

[0068] 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。

[0069] 在任何上述方面的一些实施方案中,所述骨是皮质骨。在任何上述方面的一些实施方案中,所述骨是小梁骨。

[0070] 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,所述量足以在受试者中增加骨密度,减少骨吸收,降低骨吸收速率,增加骨形成,增加骨形成速率,降低破骨细胞活性,增加成骨细胞活性,或影响肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0071] 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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0072] 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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0073] 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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0074] 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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0075] 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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0076] 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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的

骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0077] 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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0078] 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X<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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X<sub>17</sub>处的氨基酸K,位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0079] 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X<sub>17</sub>处的氨基酸K,和/或位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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X<sub>17</sub>处的氨基酸K

和/或位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>处的氨基酸序列TEEN或TKEN)的变体来增加骨矿物质密度,增加骨形成,减少骨吸收,或治疗涉及有此需要的受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的涉及骨损伤的病况或疾病,或影响受试者(例如,具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者)中的肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导。

[0080] 定义

[0081] 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。

[0082] 野生型、人ActRIIa前体蛋白(SEQ ID NO:75):

*MGAAAKLAFAVFLISCGGAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDQDKRRHCFAT*  
**WKNISGSIEIVKQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKF SYFPEMEVTQPT**  
**SNPVTPKPPYYNILLYSLVPLMLIAGIVICAFWVYRHHK MAYPPVLVPTQDPGPPPSPLLGLKPL**  
**QLLEVVKARGRGFCVWKAQOLLNEYVAVKIFPIQDKQS WQNEYEVYSLPGMKHENIQLFIGAEKRG**  
**TSVDVDLWLITAFHEKGSLSDLKANVVSWNELCHIAETMARGLAYLHEDIPGLKDGHKPAISHR**  
**DIKSKNVLLKNNLTACIADFGALKFEAGKSAGDTHGQVGTRRYMAPEVLEGAINFORDAFLRID**  
**MYAMGLVLWELASRCTAADGPVDEYMLPFEEEIGQHPSLEDMQEVVVHKKKRPVLRDYWQKH**  
**AGMAML CETIEECWDHD AEARLSAGCVGERITQMQR LTNITTEDIVTVVTMVTNVDFPPKESSL**

[0083] [0084] 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。

[0085] 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:细胞外ActRIIb变体(SEQ ID NO:149):

[0086] **GRGEAETRECIFYNANWEKDRTNQSGLEPCYGDQDKRRHCFASWKNSSGTIELVKQGCWLDDI**  
**NCYDRQECVAKKDSPEVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT**

[0087] 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。

[0088] 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<sub>H</sub>2结构域和C<sub>H</sub>3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<sub>H</sub>2和C<sub>H</sub>3)。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<sub>H</sub>3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<sub>H</sub>2抗体恒定结构域中的减少Fc结构域和Fc $\gamma$ 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。

[0089] 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和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DICLPRWGCLW(SEQ ID NO:152)。

[0090] 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。

[0091] 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)。

[0092] 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)的手段的组合或附接。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方式融合。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。

[0093] 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-末端延伸可以是一个或多个氨基酸(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。

[0094] 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: $100 \times (A/B)$ (A/B的分数)

[0095] 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。

[0096] 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。

[0097] 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。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。

[0098] 如本文所用,术语“骨矿物质密度(BMD)”、“骨密度”和“骨量”是指骨组织中骨矿物质(例如钙)的量的量度。BMD可以通过本领域技术人员已知的良好确立的临床技术(例如,通过单一-1或双能光子或X射线吸收测定法)来测量。BMD的概念涉及每体积骨的矿物质量,尽管临幊上其通过代理人根据成像时每平方厘米骨表面的光密度来测量。BMD测量值在临幊医学中用作骨质疏松症和骨折风险的间接指标。在一些实施方案中,BMD测试结果作为T-评分提供,其中T-评分代表与健康的30岁成人的理想或峰值骨矿物质密度相比的受试者的BMD。0的评分表示BMD等于健康年轻成人的正常参考值。测量的受试者BMD和健康年轻成人的参考值之间的差异以标准偏差单位(SD)测量。因此,在+1 SD和-1SD之间的T-评分可以指示正常BMD,在-1SD和-2.5SD之间的T-评分可以指示低骨量(例如,骨质减少症),且低于-2.5SD的T-评分可以指示骨质疏松症或严重的骨质疏松症。在一些实施方案中,将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、编码这种多肽的核酸或含有这种核酸分子的载体施用于有此需要的受试者,其中所述患者具有低骨量(例如,T-评分在-1SD和-2.5SD之间)。在一些实施方案中,将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、编码这种多肽的核酸或含有这种核酸分子的载体施用于有此需要的受试者,其中所述患者具有骨质疏松症(例如,T-评分小于-2.5SD)。在一些实施方案中,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、编码这种多肽的核酸或含有这种核酸分子的载体的施用通过增加其BMD来治疗受试者。在一些实施方案中,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、编码这种多肽的核酸或含有这种核酸分子的载体的施用增加受试者的BMD,导致受试者的T-评分增加(例如,导致受试者的T-评分增加0.1或更多、0.2或更多、0.3或更多、0.4或更多、0.5或更多、1.0或更多或2.0或更多)。

[0099] 如本文所用,术语“骨重塑”或“骨代谢”是指通过用新合成的蛋白质基质包替换旧骨的离散部分来维持骨强度和离子内稳态的过程。骨被破骨细胞吸收,并且在称为骨化的过程中通过成骨细胞沉积。骨细胞活性在该过程中起关键作用。导致骨量减少的病况可以由吸收的增加或骨化的减少引起。在健康的个体中,在儿童期期间,骨形成超过吸收。随着老化过程发生,吸收超过形成。由于与更年期相关的雌激素缺乏,骨吸收率在绝经后老年女性中通常也高得多。

[0100] 如本文所用,术语“骨吸收”或“骨分解代谢活性”是指破骨细胞分解骨中的组织并且释放矿物质、导致矿物质(例如,钙)从骨组织转移至血液的过程。骨吸收速率的增加与衰老(包括绝经后妇女)相关。高骨吸收速率或超过骨化速率的骨吸收速率,与骨骼病症(诸如骨矿物质密度降低,包括骨质减少症和骨质疏松症)相关。在一些实施方案中,将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、编码这种多肽的核酸或含有这种核酸分子的载体施用于有此需要的受试者,以减少受试者中的骨吸收(例如,受试者中的骨吸收速率)。

[0101] 如本文所用,术语“骨形成”、“骨化”、“骨生成”或“骨合成代谢活性”是指通过成骨细胞形成新骨组织的过程。在一些实施方案中,将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、编码这种多肽的核酸或含有这种核酸分子的载体施用于有此需要的受试者,以增加骨形成(例如,增加受试者中的骨形成或骨生成的速率)。

[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“血管渗透性或渗漏”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。血管渗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,诸如骨质疏松症,或涉及骨损伤的病况,例如,原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失。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,诸如涉及骨损伤的疾病或病况。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,例如骨疾病或病症(例如,原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失)。通常,治疗骨骼疾病或病况发生在受试者已经发展骨骼疾病或病况和/或已经被诊断具有骨骼疾病或病况之后。预防骨骼疾病或病况是指当受试者处于发展骨骼疾病或病况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骨骼疾病或病况的迹象或危险因素的体征或轻微症状,或者具有发展骨骼疾病或病况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] 发明详述

[0116] 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。本发明还包括通过经由向受试者施用包含本文所述的细胞外ActRIIa变体的多肽来在受试者中增加骨矿物质密度或骨形成或影响肌肉生长抑制素、激活素和/或BMP9信号传导来治疗涉及骨损伤的疾病和病况的方法。

[0117] I. 细胞外激活素受体IIa型(ActRIIa)变体

[0118] 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 $\beta$ (TGF- $\beta$ )超家族中的配体的信号。TGF- $\beta$ 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- $\beta$ 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)。激活素在骨组织中丰富表达,并通过控制成骨细胞和破骨细胞功能来调节骨形成。已报道激活素在骨病中上调并抑制成骨细胞活性。肌肉生长抑制素还通过增加骨生成和抑制成骨细胞活性而牵涉于骨内稳态。这些数据表明激活素受体配体(例如,激活素和肌肉生长抑制素)促进骨吸收,这可能导致涉及骨损伤的疾病或病况,诸如原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失。因此,减少或抑制该信号传导的方法可用于治疗涉及骨损伤的疾病和病况。

[0119] 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,最佳肽赋予骨矿物质密度的显著增加,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,诸如骨疾,导致骨吸收或破骨细胞活性降低,以及骨形成、骨矿物质密度或骨强度增加。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。

[0120] 人ActRIIa,细胞外部分(SEQ ID NO:73):

GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDCKRRHCFATWKNISGSIEIVKQGC

[0121] WLDDINCYDRTDCVKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPMEVETQPTS

[0122] 人ActRIIb,细胞外部分(SEQ ID NO:74):

GRGEAETRECIYYNANWELERTNQSGLERCEGEQDKRLHCYASWRNSSGTIELVKKGCWL

[0123] DDFNCYDRQECVATEENPQVYFCCCEGNFCNERFTHLPEAGGPEVTYEPPPTAPT。

[0124] 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。

[0125] 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X<sub>17</sub>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 GAILGRSETQECLFYNNANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIVAKGCWLDDFNCYDRTDCVET EENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (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X<sub>17</sub>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X<sub>17</sub>处保留氨基酸K。

[0126] 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X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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。

[0127] 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-末端的一个或多个额外氨基酸(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)。

[0128] 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

GAILGRSETQECLX<sub>1</sub>X<sub>2</sub>NANWX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>TNQTVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>X<sub>10</sub>X<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>HGX<sub>15</sub>ATWX<sub>16</sub>NISGSIEIVX<sub>17</sub>X<sub>18</sub>GCX<sub>19</sub>X<sub>20</sub>X<sub>21</sub>DX<sub>22</sub>NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>X<sub>24</sub>X<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS  
(SEQ ID NO: 1)

GAILGRSETQECLFX<sub>2</sub>NANWX<sub>3</sub>X<sub>4</sub>X<sub>5</sub>X<sub>6</sub>TNQTVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>KX<sub>11</sub>X<sub>12</sub>X<sub>13</sub>X<sub>14</sub>HGX<sub>15</sub>ATWX<sub>16</sub>NISGSIEIVX<sub>17</sub>X<sub>18</sub>GCX<sub>19</sub>X<sub>20</sub>X<sub>21</sub>DX<sub>22</sub>NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>X<sub>24</sub>X<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 2)

GAILGRSETQECLFX<sub>2</sub>NANWEX<sub>4</sub>X<sub>5</sub>RTNQTVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>KDKRX<sub>14</sub>HGX<sub>15</sub>ATWX<sub>16</sub>NISGSIEIVKX<sub>18</sub>GCWL  
DDX<sub>22</sub>NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>KX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 3)

GAILGRSETQECLFX<sub>2</sub>NANWEX<sub>4</sub>DRTNQTVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>KDKRX<sub>14</sub>HGX<sub>15</sub>ATWX<sub>16</sub>NISGSIEIVKX<sub>18</sub>GCWL  
DDX<sub>22</sub>NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>KX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 4)

GAILGRSETQECLFX<sub>2</sub>NANWEX<sub>4</sub>DRTNQTVEX<sub>7</sub>CX<sub>8</sub>GX<sub>9</sub>KDKRX<sub>14</sub>HCFATWKNISGSIEIVKX<sub>18</sub>GCWLDDI  
NCYDRTDCVEX<sub>23</sub>KX<sub>25</sub>X<sub>26</sub>PX<sub>27</sub>VYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (SEQ ID NO: 5)

X <sub>1</sub>	F或 Y	X <sub>15</sub>	F或 Y
X <sub>2</sub>	F或 Y	X <sub>16</sub>	K, R, 或 A
X <sub>3</sub>	E或 A	X <sub>17</sub>	K, A, Y, F, 或 I
X <sub>4</sub>	K或 L	X <sub>18</sub>	Q或 K
X <sub>5</sub>	D或 E	X <sub>19</sub>	W或 A
X <sub>6</sub>	R或 A	X <sub>20</sub>	L或 A
X <sub>7</sub>	P或 R	X <sub>21</sub>	D, K, R, A, F, G, M, N, 或 I
X <sub>8</sub>	Y或 E	X <sub>22</sub>	I, F, 或 A
X <sub>9</sub>	D或 E	X <sub>23</sub>	K或 T
X <sub>10</sub>	K或 Q	X <sub>24</sub>	K或 E
X <sub>11</sub>	D或 A	X <sub>25</sub>	D或 E
X <sub>12</sub>	K或 A	X <sub>26</sub>	S或 N
X <sub>13</sub>	R或 A	X <sub>27</sub>	E或 Q
X <sub>14</sub>	R或 L		

[0129] 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,X<sub>3</sub>是E,X<sub>6</sub>是R,X<sub>11</sub>是D,X<sub>12</sub>是K,X<sub>13</sub>是R,X<sub>16</sub>是K或R,X<sub>17</sub>是K,X<sub>19</sub>是W,X<sub>20</sub>是L,X<sub>21</sub>是D,且X<sub>22</sub>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,X<sub>17</sub>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,X<sub>17</sub>是K,X<sub>23</sub>是T,X<sub>24</sub>是E,X<sub>25</sub>是E,且X<sub>26</sub>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,X<sub>17</sub>是K,X<sub>23</sub>是T,X<sub>24</sub>是K,X<sub>25</sub>是E,且X<sub>26</sub>是N。

[0130] 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)。

[0131] 表2. 具有SEQ ID NO:6-72的序列的细胞外ActRIIa变体

SEQ ID NO	氨基酸序列
6	GAILGRSETQECLFY NANWELDRTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
7	GAILGRSETQECLFY NANWELERTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
8	GAILGRSETQECLFY NANWELDRTNQTGVERCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
9	GAILGRSETQECLFY NANWELDRTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
10	GAILGRSETQECLFY NANWELDRTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
11	GAILGRSETQECLFY NANWELDRTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
12	GAILGRSETQECLFY NANWELDRTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
13	GAILGRSETQECLFY NANWELERTNQTGVERCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
14	GAILGRSETQECLFY NANWELERTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
15	GAILGRSETQECLFY NANWELERTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
16	GAILGRSETQECLFY NANWELERTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
17	GAILGRSETQECLFY NANWELERTNQTGVEPCEGEKD KRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDR DDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0132]

SEQ ID NO	氨基酸序列
18	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
19	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
20	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
21	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
22	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
23	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
24	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
[0133]	25 GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	26 GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	27 GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	28 GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	29 GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	30 GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	31 GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	32 GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	33 GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	34 GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

SEQ ID NO	氨基酸序列
35	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
36	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
37	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
38	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
39	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
40	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
41	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
42	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
43	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDRLHCFATWKNISGSIEIV KKGC WLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
44	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
45	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
46	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
47	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
48	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
49	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
50	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0135]

SEQ ID NO	氨基酸序列
51	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
52	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
53	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
54	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
55	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
56	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
57	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
58	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
59	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
60	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
61	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
62	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
63	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETKENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
64	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDINCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
65	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWKNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
66	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCFATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
67	GAILGRSETQECLFYANWELDRTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFNCYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

SEQ ID NO	氨基酸序列
[0136]	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVEPCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFN CYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFN CYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLYYANWELERTNQTGVERCEGEQDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFN CYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFN CYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTSN P
	GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYATWRNISGSIEIV KKGCWLDDFN CYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTSN PVTPK

[0137] 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<sub>17</sub>处的氨基酸K。改变位置X<sub>17</sub>处的氨基酸可以导致活性降低。例如,具有序列GAILGRSETQECLFYANWELERTNQTGVERCEGEKDKRLHCYA TWRNISGSIEIVAKGCWLDDFN CYDRTDCVETEENPQVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS (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<sub>17</sub>处的K。

[0138] 在一些实施方案中,包含具有位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>24</sub>处的氨基酸E。在一些实施方案中,包含具有位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>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<sub>24</sub>处的氨基酸K。具有位置X<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>处的序列TEEN或TKEN的多肽具有降低或微弱的与BMP9的结合。

[0139] 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-末端添加一个或多个额外氨基酸(例如,1、2、3、4、5、6或更多个额外氨基酸)。

[0140] 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),其可以通过接头的方式与细胞外ActRIIa变体的N-或C-末端(例如,C-末端)融合。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特性。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。

[0141] 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。

[0142] 表3.排除的细胞外ActRIIa变体。

[0143]

SEQ ID NO	氨基酸序列
76	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWANISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
77	GAILGRSETQECLFFNANWAKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
78	GAILGRSETQECLFFNANWEKDATNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
79	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDAKRRHFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
80	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDARRHFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
81	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDARHCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
82	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV AQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
83	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV YQGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
84	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV FOGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
85	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV QGCWLDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
86	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCALDDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
87	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWADDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

SEQ ID NO	氨基酸序列
[0144]	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLKDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLRLDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLADINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLFDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLGDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLMDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLNDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLIDINCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS
	GAILGRSETQECLFFNANWEKDRTNQTGVEPCYGDKDKRRCFATWKNISGSIEIV KQGCWLDDANCYDRTDCVEKKDSPEVYFCCCEGNMCNEKFSYFPEMEVTQPTS

[0145] 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<sub>D</sub>结合骨形态发生蛋白9(BMP9)。所述多肽可以以10pM或更高的K<sub>D</sub>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<sub>23</sub>、X<sub>24</sub>、X<sub>25</sub>和X<sub>26</sub>处具有序列TEEN或TKEN。

[0146] 另外,在一些实施方案中,所述多肽可以以约200pM或更高的K<sub>D</sub>(例如,约200、300、400、500、600、700、800或900pM或更高的K<sub>D</sub>,例如,约1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40或50nM或更高的K<sub>D</sub>,例如,约200pM至约50nM的K<sub>D</sub>)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<sub>D</sub>(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<sub>D</sub>,例如,约800pM至约200pM的K<sub>D</sub>)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<sub>D</sub>(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<sub>D</sub>,例如,约800pM至约200pM的K<sub>D</sub>)结合人激活素B。所述多肽也可以以约5pM或更高的K<sub>D</sub>(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<sub>D</sub>)结合生长和分化因子11(GDF-11)。

[0147] II.Fc结构域

[0148] 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<sub>H</sub>3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 $\gamma$ RI、Fc $\gamma$ RIIa、Fc $\gamma$ RIIb、Fc $\gamma$ RIIIa、Fc $\gamma$ RIIIb、Fc $\gamma$ 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 $\gamma$ 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 $\gamma$ 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) :

[0149] THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN  
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPVPIEKTIASKAKGQPREGQVYTL  
PPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGPFFLYSKLTVDKS  
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK .

[0150] 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。

[0151] 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。

[0152] 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<sub>H</sub>3-C<sub>H</sub>3二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<sub>H</sub>3-C<sub>H</sub>3二聚体界面以除去有利的相互作用。在C<sub>H</sub>3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。

[0153] 在还有其他实施方案中, 构成两个Fc结构域之间的C<sub>H</sub>3-C<sub>H</sub>3界面的C<sub>H</sub>3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<sub>H</sub>3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。

[0154] 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。

### [0155] III. 白蛋白结合肽

[0156] 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。

[0157] 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DICLPRWGCLW(SEQ ID NO:152)。

[0158] 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。

[0159] 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。

### [0160] IV. 纤连蛋白结构域

[0161] 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。

[0162] 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。

[0163] 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。

[0164] 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。

#### [0165] V. 血清白蛋白

[0166] 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。

[0167] 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。

[0168] 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)。

[0169] 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变体中包含血清白蛋白可以导致治疗性蛋白的延长保留。

#### [0170] VI. 接头

[0171] 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)、GGSGGSGGS(SEQ ID NO:121)、GGAGGAGGAGGA(SEQ ID NO:122)和GGSGGSGGSGGS(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GGGA(SEQ ID NO:101)或GGGGS(SEQ ID NO:102),例如,GGGGAGGGAGGGGA(SEQ ID NO:128)和GGGGSGGGSGGGGS(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)。

[0172] 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)、GGSAGGSGSGSSGGSSGTGTAGGTGSGSGTGSG(SEQ ID NO:144)、AAANSSIDLISVPVDSR(SEQ ID NO:145)或GGSGGCSEGGCSEGGSEGGSEGGSEGGSGGGS(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)<sub>n</sub>)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)。

[0173] 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。

[0174] VII. 载体、宿主细胞和蛋白产生

[0175] 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。

[0176] 核酸载体构建和宿主细胞

[0177] 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,QuikChange<sup>TM</sup>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。

[0178] 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。

[0179] 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Hs78Bst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<sup>®</sup>31,446)、大肠杆菌λ1776(ATCC<sup>®</sup>31,537,大肠杆菌BL21(DE3)(ATCC<sup>®</sup>BAA-1025),和大肠杆菌RV308(ATCC<sup>®</sup>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。

[0180] 蛋白产生、回收和纯化

[0181] 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)、Expi293<sup>TM</sup>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℃至约39℃,例如25℃至约37℃,优选37℃,和CO<sub>2</sub>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。

[0182] 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。

[0183] 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)。

[0184] 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。

#### [0185] VIII. 药物组合物和制剂

[0186] 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。

[0187] 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), $\alpha$ -改良的Eagles培养基( $\alpha$ -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)。

[0188] 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。

[0189] 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、聚丙交酯、L-谷氨酸和 $\gamma$ -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 DEPOT<sup>TM</sup>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。

[0190] 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)。

[0191] 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。

## [0192] 1X.途径、剂量和施用

[0193] 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, Tissel, 第18版(2014)。

[0194] 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。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。

[0195] 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。

[0196] 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。

[0197] 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。

#### [0198] X. 处理方法

[0199] 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)。这些ActRIIa变体特性产生可以治疗性地使用以便与内源性激活素受体竞争配体结合的多肽。由于ActRIIa变体含有所述受体的细胞外部分,它们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,已发现激活素在骨病中上调并且已知其抑制成骨细胞活性,表明增加的激活素水平导致骨病。因此,用结合激活素并减少其与内源性受体的相互作用的治疗剂的治疗可用于增加骨矿物质密度并治疗具有涉及骨损伤的疾病。

或病况的受试者。

[0200] 本发明提供了可用于在有此需要的受试者中增加骨矿物质密度、增加骨形成或减少骨吸收的组合物和治疗方法。在一些实施方案中,所述受试者可以具有导致骨损伤的疾病(例如,骨质疏松症或骨质减少症)。在一些实施方案中,本文所述的方法涉及影响具有涉及骨损伤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)导致受试者的骨矿物质密度或骨形成增加或受试者的骨吸收减少。

[0201] 在一些实施方案中,可以将本文所述的多肽(例如,包括细胞外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)施用于受试者以便在受试者中增加骨矿物质密度、增加骨形成或减少骨吸收,或影响肌肉生长抑制素、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骨损伤的疾病或病况(例如,原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失)。

[0202] 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)来治疗具有原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失的受试者的方法。在一些实施方案中,所述原发性骨质疏松症是年龄相关或激素相关的骨质疏松症(例如,与雌激素下降相关)。在一些实施方案中,所述继发性骨质疏松症是固定诱导或糖皮质激素诱导的骨质疏松症。在一些实施方案中,所述骨癌是多发性骨髓瘤或所述癌症转移相关的骨损失由多发性骨髓瘤引起。在一些实施方案中,所述治疗相关的骨损失由于用FGF-21或GLP-1治疗、用含有FGF-21或GLP-1的治疗剂治疗或2型糖尿病和/或肥胖症的治疗或由于癌症疗法(例如,化学疗法或放射疗法)而发生。在一些实施方案中,所述饮食相关的骨损失是佝偻病(例如,维生素D缺乏)。在一些实施方案中,所述低重力相关的骨损失缺乏负荷相关的骨损失。

[0203] 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(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)可用于预防涉及骨损伤的疾病或病况(例如,原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、骨硬化症、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失)的发展和/或治疗已经诊断具有涉及骨损伤的疾病或病况的患者。可以

向可能发展涉及骨损伤的疾病或病况的患者,例如具有骨损伤或低骨量的遗传倾向、家族史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多肽可以预防或延迟骨损伤的发展。

[0204] 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涉及骨损伤的疾病或病况(例如,原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失)的发展和/或治疗具有涉及骨损伤的疾病或病况(例如,原发性骨质疏松症、继发性骨质疏松症、骨质减少症、骨硬化症、骨折、骨癌或癌症转移相关的骨损失、佩吉特氏病、肾性骨营养不良、治疗相关的骨损失、饮食相关的骨损失、与肥胖治疗相关的骨损失、低重力相关的骨损失或不动相关的骨损失)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,本文所述的方法增加骨矿物质密度(例如,增加骨量)。在一些实施方案中,本文所述的方法减少骨吸收(例如,降低骨分解代谢活性)。在一些实施方案中,本文所述的方法增加骨形成(例如,增加骨合成代谢活性或增加骨生成)。在一些实施方案中,本文所述的方法增加成骨细胞活性或成骨细胞生成。在一些实施方案中,本文所述的方法降低破骨细胞活性或破骨细胞生成。在一些实施方案中,本文所述的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。在一些实施方案中,所述方法增加骨形成,增加骨矿物质密度或减少皮质或小梁骨的骨吸收。

[0205] 在任何本文所述的方法中,进一步包括一个或多个氨基酸(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Fc结构域单体融合的包含细胞外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)的多肽的二聚体(例如,同二聚体或异二聚体)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,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

[0206] 实施例1-通过表面等离子体共振(SPR)评估ActRIIa变体结合亲和力

[0207] 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。ActRIIa变体在HEK293细胞中瞬时表达,并使用蛋白-A琼脂糖凝胶色谱法从调节培养基中纯化。将ActRIIa变体在流动室2-4中用捕获抗体

(来自GE GE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 Healthcare<sup>TM</sup>的HBS-EP+缓冲液用作运行缓冲液。每种配体以40μl/min的浓度系列运行以避免质量传递效应。使用BioLogic<sup>TM</sup>软件的Scrubber2分析数据以计算每种相互作用的K<sub>D</sub>(表4)。

[0208] 表4:ActRIIa变体与各种配体的结合亲和力(K<sub>D</sub>)的比较

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

[0209]

[0210] 实施例2-细胞外ActRIIa变体对骨矿物质密度的影响

[0211] 成年雄性C57/BL6小鼠接受假性手术(SHAM)或阉割-手术(ORX)。允许两个手术组在手术后恢复14天。所有动物都圈养在常规的笼子里,可自由获取食物(常规食物)和水。然后将SHAM和ORX动物分配至媒介物处理组(VEH)或ActRII变体处理组,并接受媒介物或ActRII变体(10mg/kg)的两周一次全身腹膜内施用71天。在治疗时每周两次测量体重。使用MiniSpec LF50 NMR分析仪,在研究第0天,然后在开始处理后第14、28、47和71天分析身体组成。在研究终止日期时,手术移取目标组织(肌肉、脂肪贮库和胫骨),称重并适当储存用于进一步分析。此时,还检查ORX动物以证实睾丸的完全去除。在终止实验之后,还使用微计

算机断层扫描评估各种骨骼的皮质形态测量和小梁结构。

[0212] 其他实施方案

[0213] 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。

[0214] 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。

[0215] 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> 51184-002W04  
<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 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

[0004] <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> (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 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 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

[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

[0011]       
 <210> 5  
 <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> (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									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	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 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 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 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 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〉 合成构筑体

<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 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 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 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

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建体

&lt;400&gt; 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	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					

&lt;210&gt; 26

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建体

&lt;400&gt; 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 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 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 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 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 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 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

<210> 39

<211> 109

<212> PRT

<213> 人工序列

[0035]

<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

&lt;210&gt; 43

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建体

&lt;400&gt; 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

&lt;210&gt; 44

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建体

&lt;400&gt; 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 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

[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 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 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> 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

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> 49  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> 人工序列

〈220〉  
〈223〉 合成构建体

<400> 49

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

[0042]

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> 50  
<211> 109  
<212> PRT  
<213> 人工序列

〈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 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

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建体

&lt;400&gt; 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	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					

&lt;210&gt; 54

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建体

&lt;400&gt; 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 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 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 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

&lt;210&gt; 61

&lt;211&gt; 109

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人工序列

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建体

[0050] &lt;400&gt; 61

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 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> 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 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 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 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 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 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 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 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

[0066] <213> 人工序列

<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 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

Ala Asn Trp Glu Lys Asp Arg Thr Asn Gln Thr Gly Val Glu Pro Cys  
[0073] 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 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

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; 合成构建体

&lt;400&gt; 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	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				

&lt;210&gt; 97

&lt;211&gt; 225

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人

&lt;400&gt; 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

[0079] Gly Gly Ala Gly  
1

<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  
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  
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 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 Ser 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

[0085] Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala Gly Gly Gly Ala  
1 5 10 15

<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 Ser 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 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 Ser Glu Gly Gly Ser Glu Gly Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Glu Gly Gly Ser Glu Gly Gly Ser Glu 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 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

[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 75 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

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys  
195 200 205

[0093]

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 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

