



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 112105375 A

(43) 申请公布日 2020.12.18

(21) 申请号 201980030545.8

(22) 申请日 2019.03.15

(30) 优先权数据

62/644,329 2018.03.16 US

62/676,033 2018.05.24 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2020.11.05

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2019/022630 2019.03.15

(87) PCT国际申请的公布数据

W02019/178573 EN 2019.09.19

(71) 申请人 光明之火生物科学公司

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 N·W·奈林 S·普利司内尔
C·约士海姆 M·斯陶德

(74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
司 31100

代理人 杨昀 陶家蓉

(51) Int.Cl.

A61K 38/16 (2006.01)

A61K 38/17 (2006.01)

C07K 14/435 (2006.01)

C07K 19/00 (2006.01)

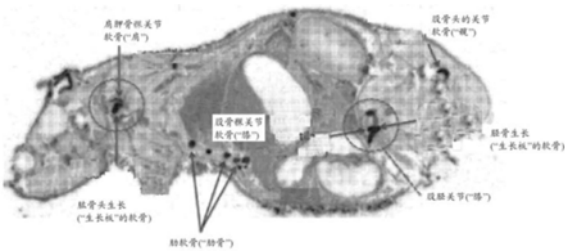
权利要求书22页 说明书143页
序列表85页 附图10页

(54) 发明名称

截短的软骨归巢肽和肽复合物及其使用方法

(57) 摘要

公开了归巢、靶向、迁移至、被导向至、被保留于或积聚于和/或结合至受试者的软骨或肾的截短的、变体的或突变的肽。还公开了截短的或突变的肽或包含此类肽的截短的或突变的肽-活性剂复合物的药物组合物和用途。可配制此类组合物以用于将活性剂靶向递送至软骨中的靶区、组织、结构或细胞。本公开的靶向组合物可将截短的或突变的肽或截短的、变体的或突变的肽或肽-活性剂复合物递送至由所述肽靶向的靶区、组织、结构或细胞。



1. 一种肽,所述肽包含:

a) SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:225中的任一个或其功能片段;或

b) SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个或其功能片段,并且在SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的每一个中还包含至少一个氨基酸,所述至少一个氨基酸选自自由以下组成的组:

i) 对于SEQ ID NO:89,其中 X^1 选自N、S或G,其中 X^2 选自L或Y,其中 X^3 选自D或E,其中 X^4 选自M或T,其中 X^5 选自N、Q、A、S、T或L,其中 X^6 选自S、G或R,其中 X^7 选自H或Y,并且其中 X^8 选自T或Y;

ii) 对于SEQ ID NO:106,其中 X^1 选自L或Y,其中 X^2 选自D或E,其中 X^3 选自M或T,其中 X^4 选自N、Q、A、S、T或L,其中 X^5 选自S、G或R,其中 X^6 选自H或Y,并且其中 X^7 选自T或Y;

iii) 对于SEQ ID NO:221,其中每个X和 X_{1-13} 单独地是任何氨基酸或无氨基酸,并且在指示位置处的以下残基中的至少一个残基、在指示位置处的以下残基中的超过一个残基、或在指示位置处的以下残基中的所有残基包括在SEQ ID NO:221中: X_1 是K, X_2 是Q, X_3 是Y, X_4 是E, X_5 是K, X_6 是T, X_7 是K, X_8 是M, X_9 是Q、A、S、T或L, X_{10} 是G, X_{11} 是K, X_{12} 是Y,或者 X_{13} 是Y;

iv) 选自自由以下组成的组的相应取代:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

2. 如权利要求1所述的肽,其中所述肽包含SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个的序列,并且还包含以下项中的至少一个:KCIN (SEQ ID NO:91);PCKR (SEQ ID NO:93);KQC (SEQ ID NO:95);RQC (SEQ ID NO:101);PCKK (SEQ ID NO:102);GKCMNGKC (SEQ ID NO:104);GRCMNGRC (SEQ ID NO:105);或GRCIXXRC (SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229),其中 X^1 =N、Q、A、S、T或L,并且 X^2 =S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。

3. 如权利要求1-2中任一项所述的肽,其中所述肽包含SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个的序列,并且所述肽还包含以下项中的至少一个:RCIN (SEQ ID NO:97);PCRR (SEQ ID NO:99);GRCINSRC (SEQ ID NO:227);GRCIXXRC (SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229),其中 X^1 =N、Q、A、S、T或L,并且 X^2 =S、G或R;PCR (SEQ ID NO:230);CLDPCRR (SEQ ID NO:231);CLDPCRR (SEQ ID NO:232);RCRGSRDC (SEQ ID NO:257);PCRRAG (SEQ ID NO:258);或RFGRCI (SEQ ID NO:259)。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的肽,其中所述肽具有选自自由SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个组成的组的序列。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的肽,其中所述肽包含SEQ ID NO:89,并且其中所述肽包含以下特征中的一个或多个:

a) X^1 选自S或G;

b) X^2 选自Y;

c) X^3 选自E;

- d) X⁴选自T;
- e) X⁵选自Q、A、S、T或L;
- f) X⁶选自G或R;
- g) X⁷选自Y;或者
- h) X⁸选自Y。

6. 如权利要求5所述的肽,其中所述肽包含所述特征中的两个、三个、四个、五个、六个、七个或更多个,或者其中所述肽包含所有所述特征。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的肽,其中

a) 所述肽包含与选自组SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240的序列至少70%、至少至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性;或者

b) 所述肽包含与选自组SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148和SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256的序列至少70%、至少至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的肽,其中

a) 所述肽包含与SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
- iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H

b) 所述肽包含与SEQ ID NO:129具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

c) 所述肽包含与SEQ ID NO:130具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- ii) N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

d) 所述肽包含与SEQ ID NO:131具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者

iii) N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

e) 所述肽包含与SEQ ID NO:132具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者

iv) N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

f) 所述肽包含与SEQ ID NO:133具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;

ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者

v) N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

g) 所述肽包含与SEQ ID NO:260具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

i) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者

ii) C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者

h) 所述肽包含与SEQ ID NO:262具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸的连接序列,并且其中C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

9. 如权利要求8所述的肽,其中所述连接序列在所述肽的N末端或C末端处,或在所述肽的N末端和C末端两者处。

10. 如权利要求8-9中任一项所述的肽,其中所述连接序列包含1至100个氨基酸残基。

11. 如权利要求1-10中任一项所述的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列,并且在N末端处还包含不超过5个另外的氨基酸。

12. 如权利要求1-11中任一项所述的肽,其中所述肽由与选自由SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262组成的组的肽中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列组成。

13. 如权利要求12所述的肽,其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中:

a) 对于SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个:

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
- iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- b) 对于SEQ ID NO:129,N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- c) 对于SEQ ID NO:130:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - ii) N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- d) 对于SEQ ID NO:131:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - iii) N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- e) 对于SEQ ID NO:132:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - iv) N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- f) 对于SEQ ID NO:133:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - v) N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- g) 对于SEQ ID NO:260:
 - i) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - ii) C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- h) 对于SEQ ID NO:262,C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

14. 如权利要求1-13中任一项所述的肽,其中所述肽选自由以下组成的组:SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:262。

15. 如权利要求1-14中任一项所述的肽,其中所述肽由与选自由SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256组成的组的肽中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列组成。

16. 如权利要求1-15中任一项所述的肽,其中所述肽选自由以下组成的组:SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ

ID NO:249-SEQ ID NO:256。

17. 一种肽, 其中

a) 所述肽包含与选自组SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240的序列至少70%、至少至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性; 或者

b) 所述肽包含与选自组SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148和SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256的序列至少70%、至少至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性。

18. 一种肽, 其中

a) 所述肽包含与SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列, 并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列, 并且其中

i) N-1选自由以下组成的组: G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

ii) N-2选自由以下组成的组: G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;

iii) N-3选自由以下组成的组: G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

iv) N-4选自由以下组成的组: G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

v) N-5选自由以下组成的组: G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; 或者

vi) N-6选自由以下组成的组: A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H

b) 所述肽包含与SEQ ID NO:129具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列, 并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列, 并且其中N-1选自由以下组成的组: A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

c) 所述肽包含与SEQ ID NO:130具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列, 并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列, 并且其中

i) N-1选自由以下组成的组: G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; 或者

ii) N-2选自由以下组成的组: A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

d) 所述肽包含与SEQ ID NO:131具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列, 并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列, 并且其中

i) N-1选自由以下组成的组: G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

ii) N-2选自由以下组成的组: G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; 或者

iii) N-3选自由以下组成的组: A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

e) 所述肽包含与SEQ ID NO:132具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列, 并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列, 并且其中

i) N-1选自由以下组成的组: G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

ii) N-2选自由以下组成的组: G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

- iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- iv) N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- f) 所述肽包含与SEQ ID NO:133具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - v) N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- g) 所述肽包含与SEQ ID NO:260具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中
 - i) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - ii) C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- h) 所述肽包含与SEQ ID NO:262具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸的连接序列,并且其中C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

19. 如权利要求17所述的肽,其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列。

20. 如权利要求18-19中任一项所述的肽,其中所述连接序列在所述肽的N末端或C末端处,或在所述肽的N末端和C末端两者处。

21. 如权利要求18-20中任一项所述的肽,其中所述连接序列包含1至100个氨基酸残基。

22. 如权利要求18-21中任一项所述的肽,其中所述肽包含与SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列,并且在N末端处还包含不超过5个另外的氨基酸。

23. 如权利要求18-22中任一项所述的肽,其中所述肽由与选自由SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262组成的组的肽中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列组成。

24. 如权利要求23所述的肽,其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中:

- a) 对于SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
 - iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

- iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- b) 对于SEQ ID NO:129,N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- c) 对于SEQ ID NO:130:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - ii) N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- d) 对于SEQ ID NO:131:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - iii) N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- e) 对于SEQ ID NO:132:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - iv) N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- f) 对于SEQ ID NO:133:
 - i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - v) N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- g) 对于SEQ ID NO:260:
 - i) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - ii) C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- h) 对于SEQ ID NO:262,C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

25. 如权利要求18-24中任一项所述的肽,其中所述肽选自由以下组成的组:SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:262。

26. 如权利要求17或19-25中任一项所述的肽,其中所述肽由与选自由SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256组成的组的肽中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列组成。

27. 如权利要求17或19-26中任一项所述的肽,其中所述肽选自由以下组成的组:SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256。

28. 如权利要求1-27中任一项所述的肽,其中所述肽包含SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:

45-SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:127-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:149或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263,并且在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。

29.如权利要求1-28中任一项所述的肽,其中所述肽包含SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29-SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:52-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256、和SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:226,并且在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRR(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);和RFGRCI(SEQ ID NO:259)。

30.如权利要求1-29中任一项所述的肽,其中所述肽在其序列内包含以下肽片段中的一个或多个:GKCINKKCKC(SEQ ID NO:90);KCIN(SEQ ID NO:91);KKCK(SEQ ID NO:92);PCKR(SEQ ID NO:93);KRCSRR(SEQ ID NO:94);KQC(SEQ ID NO:95);GRCINRRRCRC(SEQ ID NO:96);RCIN(SEQ ID NO:97);RRCR(SEQ ID NO:98);PCRR(SEQ ID NO:99);RRCSRR(SEQ ID NO:100);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);KKCSKK(SEQ ID NO:103);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R(SEQ ID NO:229);PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRR(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);和RFGRCI(SEQ ID NO:259)。

31.如权利要求1-30中任一项所述的肽,其中所述肽包含N末端序列,所述N末端序列包含GG、SS、GS、SG、S或G。

32.如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:219。

33.如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:220。

34.如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:221,并且其中:

a)所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;或者

b)所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR

(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRR(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);和RFGRCI(SEQ ID NO:259)

c) 并且所述肽还包含至少一个选自由以下组成的组的相应取代:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

35. 如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:222。

36. 如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:223。

37. 如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:224。

38. 如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:225。

39. 如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:226。

40. 如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:87。

41. 如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:89,并且其中:

a) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;或者

b) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRR(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);和RFGRCI(SEQ ID NO:259)

c) 并且所述肽还包含至少一个选自由以下组成的组的相应取代:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

42. 如权利要求1-31中任一项所述的肽,其中所述肽是SEQ ID NO:106,并且其中:

a) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;或者

b) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以

独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R;PCR (SEQ ID NO:230);CLDPCRRA (SEQ ID NO:231);CLDPCR (SEQ ID NO:232);RCRGSRDC (SEQ ID NO:257);PCRRAG (SEQ ID NO:258);和RFGRCI (SEQ ID NO:259)

c) 并且所述肽还包含至少一个选自由以下组成的组的相应取代:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

43. 如权利要求1-31中任一项所述的肽, 其中所述肽是SEQ ID NO:110, 并且在N末端处还包含不超过5个另外的氨基酸。

44. 如权利要求1-31中任一项所述的肽, 其中所述肽是SEQ ID NO:219。

45. 如权利要求1-31中任一项所述的肽, 其中所述肽是SEQ ID NO:221

a) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN (SEQ ID NO:91);PCKR (SEQ ID NO:93);KQC (SEQ ID NO:95);RQC (SEQ ID NO:101);PCKK (SEQ ID NO:102);GKCMNGKC (SEQ ID NO:104);GRCMNGRC (SEQ ID NO:105);GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R, 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;或者

b) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN (SEQ ID NO:97);PCRR (SEQ ID NO:99);GRCINSRC (SEQ ID NO:227);GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R;PCR (SEQ ID NO:230);CLDPCRRA (SEQ ID NO:231);CLDPCR (SEQ ID NO:232);RCRGSRDC (SEQ ID NO:257);PCRRAG (SEQ ID NO:258);和RFGRCI (SEQ ID NO:259)

c) 并且所述肽还包含至少一个选自由以下组成的组的相应取代:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

46. 一种肽, 所述肽包含与SEQ ID NO:209-SEQ ID NO:215中的任一个至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少99%或100%的序列同一性, 其中所述肽还包含活性剂, 并且其中所述活性剂与所述肽复合以形成肽活性剂复合物。

47. 如权利要求1-46中任一项所述的肽, 所述肽还包含活性剂, 其中所述活性剂与所述肽复合以形成肽活性剂复合物。

48. 如权利要求47所述的肽活性剂复合物, 其中所述活性剂选自表3、表4或表5。

49. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-48中任一项所述的肽活性剂复合物, 其中所述肽包含与以下项至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或100%的序列同一性:

SEQ ID NO:27;

SEQ ID NO:28;

SEQ ID NO:29;

SEQ ID NO:30;
SEQ ID NO:31;
SEQ ID NO:32;
SEQ ID NO:33;
SEQ ID NO:34;
SEQ ID NO:35;
SEQ ID NO:36;
SEQ ID NO:37;
SEQ ID NO:38;
SEQ ID NO:39;
SEQ ID NO:40;
SEQ ID NO:41;
SEQ ID NO:42;
SEQ ID NO:43;
SEQ ID NO:44;
SEQ ID NO:45;
SEQ ID NO:234;
SEQ ID NO:47;
SEQ ID NO:48;
SEQ ID NO:49;
SEQ ID NO:50;
SEQ ID NO:51;

SEQ ID NO:109,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
- iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

SEQ ID NO:110,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
 - iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
 - v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
 - vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- SEQ ID NO:111;

SEQ ID NO:112;
SEQ ID NO:113;
SEQ ID NO:114;
SEQ ID NO:115;
SEQ ID NO:116;
SEQ ID NO:117;
SEQ ID NO:118;
SEQ ID NO:119;
SEQ ID NO:120;
SEQ ID NO:121;
SEQ ID NO:122;
SEQ ID NO:123;
SEQ ID NO:124;
SEQ ID NO:125;
SEQ ID NO:126;
SEQ ID NO:87;

SEQ ID NO:129,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

SEQ ID NO:130,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- ii) N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

SEQ ID NO:131,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- iii) N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

SEQ ID NO:132,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者
- iv) N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

SEQ ID NO:133,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

- i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;
- ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;
- iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者

v) N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

SEQ ID NO:89;

SEQ ID NO:106;

SEQ ID NO:219;

SEQ ID NO:221;

SEQ ID NO:260,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;

iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

vii) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者

viii) C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或

SEQ ID NO:262,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中

i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;

iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;

vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者

vii) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

50.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-49中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含与以下项至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%的序列同一性:

SEQ ID NO:52;

SEQ ID NO:53;

SEQ ID NO:54;

SEQ ID NO:55;

SEQ ID NO:56;

SEQ ID NO:57;

SEQ ID NO:58;

SEQ ID NO:59;

SEQ ID NO:60;

SEQ ID NO:61;

SEQ ID NO:62;

SEQ ID NO:63;
SEQ ID NO:64;
SEQ ID NO:65;
SEQ ID NO:66;
SEQ ID NO:134;
SEQ ID NO:135;
SEQ ID NO:136;
SEQ ID NO:137;
SEQ ID NO:138;
SEQ ID NO:139;
SEQ ID NO:140;
SEQ ID NO:141;
SEQ ID NO:142;
SEQ ID NO:143;
SEQ ID NO:144;
SEQ ID NO:145;
SEQ ID NO:146;
SEQ ID NO:147;或
SEQ ID NO:148。

51. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-50中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽归巢、靶向、迁移至、积聚于、结合至、被保留于或被导向至软骨、肾、或软骨和肾。

52. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-51中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽归巢、靶向、迁移至、积聚于、结合至、被保留于或被导向至所述肾的近端小管。

53. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-52中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽共价复合至所述活性剂。

54. 如权利要求47-53中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽活性剂复合物归巢、靶向、迁移至、积聚于、结合至、被保留于或被导向至所述受试者的软骨或肾。

55. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-54中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含4个或更多个半胱氨酸残基。

56. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-55中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含在半胱氨酸残基之间形成的三个或更多个二硫桥,其中所述二硫桥中的一个通过由其他两个二硫桥形成的环。

57. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-56中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含在半胱氨酸残基之间形成的多个二硫桥。

58. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-57中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含通过二硫化物结的二硫化物。

59. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-58中任一项所述的肽活性剂

复合物,其中所述肽的至少一个氨基酸残基呈L构型,或者其中所述肽的至少一个氨基酸残基呈D构型。

60.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-59中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述序列包含至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个、至少31个、至少32个、至少33个、至少34个、至少35个、至少36个、至少37个、至少38个、至少39个、至少40个、至少41个、至少42个、至少43个、至少44个、至少45个、至少46个、至少47个、至少48个、至少49个、至少50个、至少51个、至少52个、至少53个、至少54个、至少55个、至少56个、至少57个、至少58个残基、至少59个、至少60个、至少61个、至少62个、至少63个、至少64个、至少65个、至少66个、至少67个、至少68个、至少69个、至少70个、至少71个、至少72个、至少73个、至少74个、至少75个、至少76个、至少77个、至少78个、至少79个、至少80个、或至少81个残基。

61.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-60中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个K残基被R残基替换,或者其中任何一个或多个R残基被K残基替换。

62.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-61中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个M残基被I、L或V残基中的任一个替换。

63.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-62中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个L残基被V、I或M残基中的任一个替换。

64.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-63中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个I残基被M、L或V残基中的任一个替换。

65.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-64中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个V残基被M、I或L残基中的任一个替换。

66.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-65中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个G残基被A残基替换,或者其中任何一个或多个A残基被G残基替换。

67.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-66中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个S残基被T残基替换,或者其中任何一个或多个T残基被S残基替换。

68.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-67中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个Q残基被N残基替换,或者其中任何一个或多个N残基被Q残基替换。

69.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-68中任一项所述的肽活性剂复合物,其中任何一个或多个D残基被E残基替换,或者其中任何一个或多个E残基被D残基替换。

70.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-69中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽具有包含酸性区和碱性区的电荷分布。

71.如权利要求70所述的肽,其中所述酸性区是小块。

72.如权利要求70所述的肽,其中所述碱性区是小片。

73. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-72中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含5-12个碱性残基。

74. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-73中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含0-5个酸性残基。

75. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-74中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含6个或更多个碱性残基和2个或更少个酸性残基。

76. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-75中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含含有至少2个半胱氨酸残基和至少2个带正电的氨基酸残基的4-19个氨基酸残基片段。

77. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-76中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含含有至少2个半胱氨酸残基、不超过2个碱性残基和至少2个带正电的氨基酸残基的20-70个氨基酸残基片段。

78. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-77中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽包含至少3个带正电的氨基酸残基。

79. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-78中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述带正电的氨基酸残基选自K、R或它们的组合。

80. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-79中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在生理pH下具有大于2的电荷。

81. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-80中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在生理pH下具有大于3.5的电荷。

82. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-81中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在生理pH下具有大于4.5的电荷。

83. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-82中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在生理pH下具有大于5.5的电荷。

84. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-83中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在生理pH下具有大于6.5的电荷。

85. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-84中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在生理pH下具有大于7.5的电荷。

86. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-85中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在生理pH下具有大于8.5的电荷。

87. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-86中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在生理pH下具有大于9.5的电荷。

88. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-87中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽选自钾通道激动剂、钾通道拮抗剂、部分钾通道、钠通道激动剂、钠通道拮抗剂、钙通道激动剂、钙通道拮抗剂、hadrucalcin、theraphotoxin、虎纹捕鸟蛛毒素、短肽蝎毒素、cobatoxin或凝集素。

89. 如权利要求88所述的肽活性剂复合物或如权利要求88所述的肽,其中所述凝集素是SHL-Ib2。

90. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-89中任一项所述的肽活性剂

复合物,其中所述肽与至少一个其他肽以多聚体结构排列。

91.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-90中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽的至少一个残基包含化学修饰。

92.如权利要求91所述的肽活性剂复合物或如权利要求91所述的肽,其中所述化学修饰封闭所述肽的N末端。

93.如权利要求91所述的肽活性剂复合物或如权利要求91所述的肽,其中所述化学修饰是甲基化、乙酰化或酰化。

94.如权利要求91所述的肽活性剂复合物或如权利要求91所述的肽,其中所述化学修饰是:

一个或多个赖氨酸残基或其类似物的甲基化;

所述N末端的甲基化;或

一个或多个赖氨酸残基或其类似物的甲基化和所述N末端的甲基化。

95.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-94中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽连接至酰基加合物。

96.如权利要求47-95中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述活性剂在所述肽的N末端或C末端处与所述肽融合。

97.如权利要求47-96中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述活性剂是另一种肽。

98.如权利要求47-96中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述活性剂是抗体。

99.如权利要求47-96中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述活性剂是Fc结构域、Fab结构域、scFv或Fv片段。

100.如权利要求47-96中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述活性剂是糖皮质激素。

101.如权利要求47-96中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述活性剂是去异丁酰基环索奈德。

102.如权利要求99所述的肽活性剂复合物,其中与所述Fc结构域融合的所述肽包含连续序列。

103.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-102中任一项所述的肽活性剂复合物,其中1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种活性剂连接至所述肽。

104.如权利要求47-103中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽在所述肽的N末端处、赖氨酸残基的 ϵ 胺处、天冬氨酸或谷氨酸残基的羧酸处或C末端处通过接头连接至所述活性剂。

105.如权利要求47-104中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽经由可切割的接头连接至所述活性剂。

106.如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-105中任一项所述的肽活性剂复合物,所述肽或所述肽活性剂复合物还包含非天然氨基酸,其中所述非天然氨基酸是另一氨基酸的插入物、附加物或取代物。

107.如权利要求106所述的肽活性剂复合物或如权利要求106所述的肽,其中所述肽通过接头在所述非天然氨基酸处连接至所述活性剂。

108.如权利要求47-107中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述接头包含酰胺键、

酯键、氨基甲酸酯键、碳酸酯键、脞键、脞键、二硫键、硫酯键、硫醚键、三唑、碳-碳键或碳-氮键。

109. 如权利要求47-108中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述接头包含酯键。

110. 如权利要求105所述的肽活性剂复合物,其中所述可切割的接头包含基质金属蛋白酶、凝血酶、组织蛋白酶或 β -葡萄糖醛酸酶的切割位点。

111. 如权利要求104-110中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述接头是水解不稳定的接头。

112. 如权利要求104-111中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述接头是pH敏感性的、可还原的、谷胱甘肽敏感性的或蛋白酶可切割的。

113. 如权利要求47-112中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽经由稳定的接头连接至所述活性剂。

114. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-113中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽具有约9的等电点。

115. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-114中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽连接至可检测剂。

116. 如权利要求115所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述可检测剂在所述肽的N末端或C末端处与所述肽融合。

117. 如权利要求115-116中任一项所述的肽活性剂复合物或肽,其中1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种可检测剂连接至所述肽。

118. 如权利要求115-117中任一项所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述肽经由可切割的接头连接至所述可检测剂。

119. 如权利要求115-118中任一项所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述肽在所述肽的N末端处、内部赖氨酸残基的 ϵ 胺处或C末端处通过接头连接至所述可检测剂。

120. 如权利要求115-119中任一项所述的肽活性剂复合物或肽,所述肽活性剂复合物或肽还包含非天然氨基酸,其中所述非天然氨基酸是另一氨基酸的插入物、附加物或取代物。

121. 如权利要求120所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述肽通过接头在所述非天然氨基酸处连接至所述可检测剂。

122. 如权利要求115-121中任一项所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述接头包含酰胺键、酯键、氨基甲酸酯键、脞键、脞键或碳-氮键。

123. 如权利要求118所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述可切割的接头包含基质金属蛋白酶、凝血酶、组织蛋白酶或 β -葡萄糖醛酸酶的切割位点。

124. 如权利要求115-118中任一项所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述肽经由稳定的接头连接至所述可检测剂。

125. 如权利要求115-124中任一项所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述可检测剂是荧光团、近红外染料、造影剂、纳米颗粒、含金属的纳米颗粒、金属螯合物、X射线造影剂、PET剂、放射性同位素或放射性核素螯合剂。

126. 如权利要求115-125中任一项所述的肽活性剂复合物或肽,其中所述可检测剂是荧光染料。

127. 如权利要求1-46中任一项所述的肽或如权利要求47-126中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽还包含连接序列。

128. 如权利要求127所述的肽,其中所述连接序列在所述肽的N末端或C末端处。

129. 如权利要求127-128中任一项所述的肽,其中所述连接序列包含1至100个氨基酸残基。

130. 一种药物组合物,所述药物组合物包含如权利要求1-46中任一项所述的肽或其盐,或如权利要求47-129中任一项所述的肽活性剂复合物或其盐,和药学上可接受的载体。

131. 如权利要求130所述的药物组合物,其中配制所述药物组合物以用于施用至受试者。

132. 如权利要求130-131中任一项所述的药物组合物,其中配制所述药物组合物以用于吸入、鼻内施用、口服施用、局部施用、肠胃外施用、静脉内施用、皮下施用、关节内施用、肌肉内施用、腹膜内施用、皮肤施用、经皮施用或它们的组合。

133. 一种治疗有需要的受试者的疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用如权利要求1-46中任一项所述的肽、如权利要求47-129中任一项所述的肽活性剂复合物或如权利要求130-132中任一项所述的药物组合物。

134. 如权利要求133所述的方法,其中通过吸入、鼻内、口服、局部、肠胃外、静脉内、皮下、关节内、肌肉内施用、腹膜内、皮肤、经皮或它们的组合施用所述肽活性剂复合物、肽或药物组合物。

135. 如权利要求133-134中任一项所述的方法,其中所述肽活性剂复合物或所述肽在施用后归巢、靶向或迁移至所述受试者的软骨。

136. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患与软骨相关。

137. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患与关节相关。

138. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是炎症、癌症、退化、生长紊乱、遗传的、撕裂、感染、疾病或损伤。

139. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是软骨营养不良。

140. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是创伤性破裂或脱离。

141. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是肋软骨炎。

142. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是疝出。

143. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是多软骨炎。

144. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是脊索瘤。

145. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是一种类型的关节炎。

146. 如权利要求145所述的方法,其中所述类型的关节炎是类风湿性关节炎。

147. 如权利要求145所述的方法,其中所述类型的关节炎是骨关节炎。

148. 如权利要求145所述的方法,其中所述类型的关节炎是狼疮关节炎。

149. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是系统性红斑狼疮。

150. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是软骨发育不全。

151. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是良性软骨瘤或恶性软骨肉瘤。

152. 如权利要求133-135中任一项所述的方法,其中所述疾患是滑囊炎、腱炎、痛风、假

性痛风、关节病、银屑病关节炎、强直性脊柱炎或感染。

153. 如权利要求138所述的方法,其中施用所述肽活性剂复合物、肽或药物组合物以治疗所述损伤、以修复由所述损伤损害的组织、或以治疗由所述损伤引起的疼痛。

154. 如权利要求138所述的方法,其中施用所述肽活性剂复合物、肽或药物组合物以治疗所述撕裂或以修复由所述撕裂损害的组织。

155. 如权利要求133-134中任一项所述的方法,其中所述肽活性剂复合物、肽或药物组合物在施用后归巢、靶向或迁移至所述受试者的肾。

156. 如权利要求133-134或155中任一项所述的方法,其中所述疾患与肾相关。

157. 如权利要求156所述的方法,其中所述疾患是狼疮肾炎、急性肾损伤(AKI)、慢性肾疾病(CKD)、高血压性肾损害、糖尿病性肾病、狼疮肾炎或肾纤维化。

158. 一种对受试者的器官或身体区成像的方法,所述方法包括:

向所述受试者施用如权利要求1-46中任一项所述的肽、如权利要求47-129中任一项所述的肽活性剂复合物或如权利要求130-132中任一项所述的药物组合物;以及
对所述受试者成像。

159. 如权利要求158所述的方法,其中还包括检测癌症或患病区、组织、结构或细胞。

160. 如权利要求158-159中任一项所述的方法,所述方法还包括对所述受试者进行外科手术。

161. 如权利要求158-160中任一项所述的方法,所述方法还包括治疗所述癌症。

162. 如权利要求158-161中任一项所述的方法,其中所述外科手术包括移除所述受试者的所述癌症或所述患病区、组织、结构或细胞。

163. 如权利要求160所述的方法,所述方法还包括在外科手术移除后对所述受试者的所述癌症或所述患病区、组织、结构或细胞成像。

164. 如权利要求47-129中任一项所述的肽活性剂复合物,其中所述肽活性剂复合物表达为融合蛋白。

165. 一种根据权利要求133-164中任一项将肽或肽剂复合物治疗或递送至有需要的受试者的方法,所述方法还包括施用伴随诊断剂、治疗剂或成像剂,其中所述伴随诊断剂或成像剂包含

a) 如权利要求42-124中任一项所述的肽活性剂复合物,

b) 如权利要求1-41中任一项所述的肽;或

c) SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148或SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256的肽,所述肽还包含诊断剂、治疗剂或成像剂,其中所述诊断剂或成像剂包括化学剂、放射标记剂、放射致敏剂、荧光团、成像剂、诊断剂、蛋白、肽或小分子。

166. 如权利要求165所述的方法,其中通过装置检测所述伴随诊断剂、治疗剂或成像剂。

167. 如权利要求166所述的方法,其中所述装置用于检测所述伴随诊断剂、治疗剂或成像剂,或用于评定所述剂的安全性和生理效应。

168. 如权利要求167所述的方法,其中所述剂的安全性和生理效应是生物利用度、摄取、分布和清除、代谢、药代动力学、定位,测量血液和组织中的浓度,评定治疗窗、范围和优

化。

169. 如权利要求165-168中任一项所述的方法,其中所述方法组合或整合进外科手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜、内窥镜或外科手术机器人,包括KINEVO 900、QEVO、CONVIVO、OMPI PENTERO 900、OMPIPENTERO 800、INFRARED 800、FLOW 800、OMPI LUMERIA、OMPI Vario、OMPI VARIO 700、OMPI Pico、TREMONT 3DHD、PROVIDO、ARVIDO、GLOW 800、Leica M530 OHX、Leica M530 OH6、Leica M720 OHX5、Leica M525 F50、Leica M525 F40、Leica M525 F20、Leica M525 OH4、Leica HD C100、Leica FL560、Leica FL400 Leica FL800、Leica DI C500、Leica ULT500、Leica可旋转分束器、Leica M651 MSD、LIGHTENING、Leica TCS SP8、SP8 FALCON、SP8 DIVE、Leica TCS SP8 STED、Leica TCS SP8 DLS、Leica TCS SP8 X、Leica TCS SP8 CARS、Leica TCS SPE)、Leica HyD、Leica HCS A、Leica DCM8、Haag-Streit 5-1000、Haag-Streit 3-1000和Intuitive Surgical da Vinci外科手术机器人。

170. 如权利要求166-169中任一项所述的方法,其中所述装置结合放射学或荧光,包括X射线放射摄影、磁共振成像(MRI)、超声、内窥镜检查、弹性成像、触觉成像、热成像、流式细胞术、医学摄影、核医学功能成像技术、正电子发射断层显像(PET)、单光子发射计算机断层显像(SPECT)、外科手术器械、手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜或外科手术机器人。

171. 如权利要求2、28、34、41、42或45中任一项所述的肽,其中所述肽包含以下项中的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个或全部:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);或GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。

172. 如权利要求3、29、34、41、42或45中任一项所述的肽,其中所述肽包含以下项中的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个或全部:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRRA(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);或RFGRCI(SEQ ID NO:259)。

173. 如权利要求30所述的肽,其中所述肽包含以下项中的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个或全部:GKCINKKCKC(SEQ ID NO:90);KCIN(SEQ ID NO:91);KKCK(SEQ ID NO:92);PCKR(SEQ ID NO:93);KRCSRR(SEQ ID NO:94);KQC(SEQ ID NO:95);GRCINRRRCRC(SEQ ID NO:96);RCIN(SEQ ID NO:97);RRCR(SEQ ID NO:98);PCRR(SEQ ID NO:99);RRCSRR(SEQ ID NO:100);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);KKCSKK(SEQ ID NO:103);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:

105);GRCINSRC (SEQ ID NO:227);GRCIXXRC (SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R (SEQ ID NO:229);PCR (SEQ ID NO:230);CLDPCRRA (SEQ ID NO:231);CLDPCR (SEQ ID NO:232);RCRGSRDC (SEQ ID NO:257);PCRRAG (SEQ ID NO:258);和RFGRCI (SEQ ID NO:259)。

174.如权利要求1、34、41、42或45中任一项所述的肽,其中所述肽还包含选自由以下组成的组的相应取代中的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个或全部:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

截短的软骨归巢肽和肽复合物及其使用方法

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求2018年3月16日提交的美国临时申请号62/644,329和2018年5月24日提交的美国临时申请号62/676,033的权益,所述临时申请出于全部目的以引用方式整体并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请含有序列表,所述序列表以ASCII格式通过电子方式提交并且据此以引用方式整体并入。创建于2019年3月13日的所述ASCII副本被命名为45639-716_601_SL.txt,并且大小是98,451字节。

背景技术

[0005] 软骨包含软骨细胞,软骨细胞是一种产生胞外基质组分的特化的细胞类型,主要包括胶原蛋白、蛋白多糖(例如聚集蛋白聚糖)和弹性纤维。胞外基质蛋白为身体富含软骨的部分(如关节、耳、鼻和气管)提供支持、缓冲和耐久性。软骨是体内不含有血管的少数组织之一,被认为是无血管组织。与身体中依赖于血流和扩散相结合的许多细胞不同,软骨细胞依赖于扩散。因为它没有直接的血液供应,与其他结缔组织相比,软骨生长和修复要慢得多。因此,软骨病症特别难以治疗。

发明内容

[0006] 在各个方面,本公开提供了一种肽,所述肽包含:a) SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:225中的任一个或其功能片段;或b) SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个或其功能片段,并且在SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的每一个中还包含至少一个氨基酸,所述至少一个氨基酸选自由以下组成的组:i) 对于SEQ ID NO:89,其中X¹选自N、S或G,其中X²选自L或Y,其中X³选自D或E,其中X⁴选自M或T,其中X⁵选自N、Q、A、S、T或L,其中X⁶选自S、G或R,其中X⁷选自H或Y,并且其中X⁸选自T或Y;ii) 对于SEQ ID NO:106,其中X¹选自L或Y,其中X²选自D或E,其中X³选自M或T,其中X⁴选自N、Q、A、S、T或L,其中X⁵选自S、G或R,其中X⁶选自H或Y,并且其中X⁷选自T或Y;并且iii) 对于SEQ ID NO:221,其中每个X和X₁₋₁₃单独地是任何氨基酸或无氨基酸,并且在指示位置处的以下残基中的至少一个残基、在指示位置处的以下残基中的超过一个残基、或在指示位置处的以下残基中的所有残基包括在SEQ ID NO:221中:X₁是K,X₂是Q,X₃是Y,X₄是E,X₅是K,X₆是T,X₇是K,X₈是M,X₉是Q、A、S、T或L,X₁₀是G,X₁₁是K,X₁₂是Y,或者X₁₃是Y;或(iv) 选自由以下组成的组的相应取代:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

[0007] 在一些方面,所述肽包含SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个或其功能片段,并且其中所述肽不包含SEQ ID NO:128或SEQ ID NO:149。在一些方面,所述肽包含SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个的序列,并且还包

含以下项中的至少一个:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);或GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。

[0008] 在一些方面,所述肽包含SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个的序列,并且所述肽还包含以下项中的至少一个:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRRA(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);或RFGRCI(SEQ ID NO:259)。

[0009] 在一些方面,所述肽具有选自由SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个组成的组的序列。

[0010] 在其他方面,所述肽包含SEQ ID NO:89,并且其中所述肽包含以下特征中的一个或多个:a) X1选自S或G;b) X2选自Y;c) X3选自E;d) X4选自T;e) X5选自Q、A、S、T或L;f) X6选自G或R;g) X7选自Y;或者h) X8选自Y。

[0011] 在一些方面,所述肽包含所述特征中的两个、三个、四个、五个、六个、七个或更多个,或者其中所述肽包含所有所述特征。在一些方面,所述肽由SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106和SEQ ID NO:221中的任一个组成,并且其中所述肽不包含SEQ ID NO:128或SEQ ID NO:149。

[0012] 在一些方面,所述肽是上述肽中的任一个,其中a) 所述肽包含与选自组SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240的序列至少70%、至少至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性;或者b) 所述肽包含与选自组SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148和SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256的序列至少70%、至少至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性。

[0013] 在一些方面,所述肽是上述肽中的任一个,其中a) 所述肽包含与SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;b) 所述肽包含与SEQ ID NO:129具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R

和H;c)所述肽包含与SEQ ID NO:130具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii) N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;d)所述肽包含与SEQ ID NO:131具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iii) N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;e)所述肽包含与SEQ ID NO:132具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iv) N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;f)所述肽包含与SEQ ID NO:133具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v) N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;g)所述肽包含与SEQ ID NO:260具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii) C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者h)所述肽包含与SEQ ID NO:262具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸的连接序列,并且其中C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

[0014] 在一些方面,所述肽包含与SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256中的任一个至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少99%或至少100%同一性,并且不包含SEQ ID NO:128或SEQ ID NO:149。在一些方面,所述肽包含SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260、SEQ ID NO:262中的任一个,并且不包含SEQ ID NO:128或SEQ ID NO:149。

[0015] 在一些方面,所述连接序列在所述肽的N末端或C末端处,或在所述肽的N末端和C

末端两者处。在一些方面,所述连接序列包含1至100个氨基酸残基。在一些方面,所述肽包含与SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列,并且在N末端处还包含不超过5个另外的氨基酸。

[0016] 在一些方面,所述肽由与选自SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262组成的组的肽中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列组成。

[0017] 在另外的方面,所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中:a)对于SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个:i)N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;iii)N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv)N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v)N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者vi)N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者b)对于SEQ ID NO:129,N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者c)对于SEQ ID NO:130:i)N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii)N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者d)对于SEQ ID NO:131:i)N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iii)N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者e)对于SEQ ID NO:132:i)N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii)N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iv)N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;f)对于SEQ ID NO:133:i)N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii)N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv)N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v)N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;g)对于SEQ ID NO:260:i)C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii)C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者h)对于SEQ ID NO:262,C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

[0018] 在一些方面,所述肽选自由以下组成的组:SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:262。

[0019] 在其他方面,所述肽由与选自SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256组成的组的肽中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列组成。

[0020] 在另外的方面,所述肽选自由以下组成的组:SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256。

[0021] 在各个方面,本公开提供了一种肽,其中a)所述肽包含与选自组SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240的序列至少70%、至少至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性;或者b)所述肽包含与选自组SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148和SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256的序列至少70%、至少至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少98%、至少99%或100%的序列同一性。

[0022] 在各个方面,本公开提供了一种肽,其中一种肽,其中a)所述肽包含与SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H; iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; b)所述肽包含与SEQ ID NO:129具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; c)所述肽包含与SEQ ID NO:130具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii) N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; d)所述肽包含与SEQ ID NO:131具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iii) N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; e)所述肽包含与SEQ ID NO:132具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iv) N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H; f)所述肽包含与SEQ ID NO:133具有至少70%、

至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v) N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;g) 所述肽包含与SEQ ID NO:260具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii) C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者h) 所述肽包含与SEQ ID NO:262具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%或至少100%序列同一性的序列,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸的连接序列,并且其中C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

[0023] 在一些方面,所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列。在一些方面,所述连接序列在所述肽的N末端或C末端处,或在所述肽的N末端和C末端两者处。在一些方面,所述连接序列包含1至100个氨基酸残基。在一些方面,所述肽包含与SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列,并且在N末端处还包含不超过5个另外的氨基酸。

[0024] 在一些方面,所述肽由与选自由SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262组成的组的肽中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列组成。

[0025] 在另外的方面,所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中:a) 对于SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个:i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者b) 对于SEQ ID NO:129,N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者c) 对于SEQ ID NO:130:i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii) N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者d) 对于SEQ ID NO:131:i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iii) N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者e) 对于SEQ ID NO:132:i) N-1选自由以下组成的

组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii)N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iv)N-4选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;f)对于SEQ ID NO:133:i)N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii)N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv)N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v)N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;g)对于SEQ ID NO:260:i)C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii)C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者h)对于SEQ ID NO:262,C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

[0026] 在一些方面,所述肽选自由以下组成的组:SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:262。在一些方面,所述肽由与选自由SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256组成的组的肽中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%序列同一性的序列组成。在一些方面,所述肽选自由以下组成的组:SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256。

[0027] 在一些方面,所述肽包含SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:45-SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:127-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:149或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263,并且在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN (SEQ ID NO:91);PCKR (SEQ ID NO:93);KQC (SEQ ID NO:95);RQC (SEQ ID NO:101);PCKK (SEQ ID NO:102);GKCMNGKC (SEQ ID NO:104);GRCMNGRC (SEQ ID NO:105);GRCIXXRC (SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。

[0028] 在一些方面,所述肽包含SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29-SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:52-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256、和SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:226,并且在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN (SEQ ID NO:97);PCRR (SEQ ID NO:99);GRCINSRC (SEQ ID NO:227);GRCIXXRC (SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR (SEQ ID NO:230);CLDPCRR (SEQ ID NO:231);CLDPCRR (SEQ ID NO:232);RCRGSRDC (SEQ ID NO:257);PCRRAG (SEQ ID NO:258);和RFGRCI (SEQ ID NO:259)。

[0029] 在其他方面,所述肽在其序列内包含以下肽片段中的一个或多个:GKCINKKCKC (SEQ ID NO:90);KCIN (SEQ ID NO:91);KKCK (SEQ ID NO:92);PCKR (SEQ ID NO:93);

KRCSRR (SEQ ID NO:94); KQC (SEQ ID NO:95); GRCINRRRCRC (SEQ ID NO:96); RCIN (SEQ ID NO:97); RRCR (SEQ ID NO:98); PCRR (SEQ ID NO:99); RRCSRR (SEQ ID NO:100); RQC (SEQ ID NO:101); PCKK (SEQ ID NO:102); KKCSKK (SEQ ID NO:103); GKCMNGKC (SEQ ID NO:104); GRCMNGRC (SEQ ID NO:105); GRCINSRC (SEQ ID NO:227); GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R (SEQ ID NO:229); PCR (SEQ ID NO:230); CLDPCRR (SEQ ID NO:231); CLDPCRR (SEQ ID NO:232); RCRGSRDC (SEQ ID NO:257); PCRRAG (SEQ ID NO:258); 和RFGRCI (SEQ ID NO:259)。

[0030] 在一些方面, 所述肽包含N末端序列, 所述N末端序列包含GG、SS、GS、SG、S或G。在一些方面, 所述肽是SEQ ID NO:219。在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:220。在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:221, 并且其中:a) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个: KCIN (SEQ ID NO:91); PCKR (SEQ ID NO:93); KQC (SEQ ID NO:95); RQC (SEQ ID NO:101); PCKK (SEQ ID NO:102); GKCMNGKC (SEQ ID NO:104); GRCMNGRC (SEQ ID NO:105); GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R, 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; 或者b) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个: RCIN (SEQ ID NO:97); PCRR (SEQ ID NO:99); GRCINSRC (SEQ ID NO:227); GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R; PCR (SEQ ID NO:230); CLDPCRR (SEQ ID NO:231); CLDPCRR (SEQ ID NO:232); RCRGSRDC (SEQ ID NO:257); PCRRAG (SEQ ID NO:258); 和RFGRCI (SEQ ID NO:259); 或者c) 并且所述肽还包含至少一个选自由以下组成的组的相应取代: N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

[0031] 在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:222。在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:223。在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:224。在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:225。在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:226。在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:87。在其他方面, 所述肽是SEQ ID NO:89, 并且其中:a) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个: KCIN (SEQ ID NO:91); PCKR (SEQ ID NO:93); KQC (SEQ ID NO:95); RQC (SEQ ID NO:101); PCKK (SEQ ID NO:102); GKCMNGKC (SEQ ID NO:104); GRCMNGRC (SEQ ID NO:105); GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R, 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; 或者b) 所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个: RCIN (SEQ ID NO:97); PCRR (SEQ ID NO:99); GRCINSRC (SEQ ID NO:227); GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R; PCR (SEQ ID NO:230); CLDPCRR (SEQ ID NO:231); CLDPCRR (SEQ ID NO:232); RCRGSRDC (SEQ ID NO:257); PCRRAG (SEQ ID NO:258); 和RFGRCI (SEQ ID NO:259); 或者c) 并且所述肽还包含至少一个选自由以下组成的组的相应取代: N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、

N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

[0032] 在其他方面,所述肽是SEQ ID NO:106,并且其中:a)所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;或者b)所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRR(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);和RFGRCI(SEQ ID NO:259);或者c)并且所述肽还包含至少一个选自以下组成的组的相应取代:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

[0033] 在其他方面,所述肽是SEQ ID NO:110,并且在N末端处还包含不超过5个另外的氨基酸。在其他方面,所述肽是SEQ ID NO:219。在其他方面,所述肽是SEQ ID NO:221,a)所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;或者b)所述肽在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRR(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);和RFGRCI(SEQ ID NO:259);或者c)并且所述肽还包含至少一个选自以下组成的组的相应取代:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

[0034] 在各个方面,本公开提供了一种肽,所述肽与SEQ ID NO:209-SEQ ID NO:215中的任一个具有至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少95%、至少97%、至少99%或100%的序列同一性,其中所述肽还包含活性剂,并且其中所述活性剂与所述肽复合以形成肽活性剂复合物。在一些方面,所述肽还包含活性剂,其中所述活性剂与所述肽复合以形成肽活性剂复合物。在一些方面,所述活性剂选自表3、表4或表5。

[0035] 在一些方面,在上述任何肽中或在上述任何肽活性剂复合物中,所述肽包含与以下项至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%或100%的序列同一性:SEQ ID NO:27;SEQ ID NO:28;SEQ ID NO:29;SEQ ID NO:30;SEQ ID NO:31;SEQ ID NO:32;SEQ ID NO:33;SEQ ID NO:34;SEQ ID NO:35;SEQ ID NO:36;SEQ ID NO:37;SEQ ID NO:38;SEQ ID

NO:39;SEQ ID NO:40;SEQ ID NO:41;SEQ ID NO:42;SEQ ID NO:43;SEQ ID NO:44;SEQ ID NO:45;SEQ ID NO:234;SEQ ID NO:47;SEQ ID NO:48;SEQ ID NO:49;SEQ ID NO:50;SEQ ID NO:51;SEQ ID NO:109,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i)N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;iii)N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv)N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v)N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者vi)N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H,在N末端处还包含不超过5个另外的氨基酸;

[0036] SEQ ID NO:110,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i)N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;iii)N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv)N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v)N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者vi)N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H,在N末端处还包含不超过5个另外的氨基酸;SEQ ID NO:111;SEQ ID NO:112;SEQ ID NO:113;SEQ ID NO:114;SEQ ID NO:115;SEQ ID NO:116;SEQ ID NO:117;SEQ ID NO:118;SEQ ID NO:119;SEQ ID NO:120;SEQ ID NO:121;SEQ ID NO:122;SEQ ID NO:123;SEQ ID NO:124;SEQ ID NO:125;SEQ ID NO:126;SEQ ID NO:87;SEQ ID NO:129,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中N-1选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;SEQ ID NO:130,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i)N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者ii)N-2选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;SEQ ID NO:131,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i)N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iii)N-3选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;SEQ ID NO:132,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i)N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii)N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii)N-3选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者iv)N-4选自由以下组成的

组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;SEQ ID NO:133,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者v) N-5选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;SEQ ID NO:89;SEQ ID NO:106;SEQ ID NO:219;或SEQ ID NO:221;SEQ ID NO:260,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;vii) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者viii) C+2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或SEQ ID NO:262,并且其中所述肽还包含紧邻所述肽的N末端或C末端定位的具有一个或多个氨基酸残基的连接序列,并且其中i) N-1选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;ii) N-2选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;iii) N-3选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;iv) N-4选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;v) N-5选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;vi) N-6选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或者vii) C+1选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

[0037] 在一些方面,在上述肽活性剂复合物中,所述肽包含与以下项至少70%、至少80%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%的序列同一性:SEQ ID NO:52;SEQ ID NO:53;SEQ ID NO:54;SEQ ID NO:55;SEQ ID NO:56;SEQ ID NO:57;SEQ ID NO:58;SEQ ID NO:59;SEQ ID NO:60;SEQ ID NO:61;SEQ ID NO:62;SEQ ID NO:63;SEQ ID NO:64;SEQ ID NO:65;SEQ ID NO:66;SEQ ID NO:134;SEQ ID NO:135;SEQ ID NO:136;SEQ ID NO:137;SEQ ID NO:138;SEQ ID NO:139;SEQ ID NO:140;SEQ ID NO:141;SEQ ID NO:142;SEQ ID NO:143;SEQ ID NO:144;SEQ ID NO:145;SEQ ID NO:146;SEQ ID NO:147;或SEQ ID NO:148。

[0038] 在一些方面,在所述肽或所述肽活性剂复合物中,所述肽归巢、靶向、迁移至、积聚于、结合至、被保留于或被导向至软骨、肾、或软骨和肾。在一些方面,在所述肽或所述肽活性剂复合物中,所述肽归巢、靶向、迁移至、积聚于、结合至、被保留于或被导向至肾的近端小管。在一些方面,在所述肽或所述肽活性剂复合物中,所述肽共价复合至所述活性剂。在一些方面,所述肽活性剂复合物归巢、靶向、迁移至、积聚于、结合至、被保留于或被导向至

受试者的软骨或肾。在一些方面,在所述肽或所述肽活性剂复合物中,所述肽包含4个或更多个半胱氨酸残基。

[0039] 在一些方面,在所述肽或所述肽活性剂复合物中,所述肽包含在半胱氨酸残基之间形成的三个或更多个二硫桥,其中所述二硫桥中的一个通过由其他两个二硫桥形成的环。在一些方面,在所述肽或所述肽活性剂复合物中,所述肽包含在半胱氨酸残基之间形成的多个二硫桥。在一些方面,在所述肽或所述肽活性剂复合物中,所述肽包含通过二硫化物结的二硫化物。在一些方面,所述肽的至少一个氨基酸残基呈L构型,或者其中所述肽的至少一个氨基酸残基呈D构型。在一些方面,所述序列包含至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个、至少31个、至少32个、至少33个、至少34个、至少35个、至少36个、至少37个、至少38个、至少39个、至少40个、至少41个、至少42个、至少43个、至少44个、至少45个、至少46个、至少47个、至少48个、至少49个、至少50个、至少51个、至少52个、至少53个、至少54个、至少55个、至少56个、至少57个、至少58个残基、至少59个、至少60个、至少61个、至少62个、至少63个、至少64个、至少65个、至少66个、至少67个、至少68个、至少69个、至少70个、至少71个、至少72个、至少73个、至少74个、至少75个、至少76个、至少77个、至少78个、至少79个、至少80个、或至少81个残基。

[0040] 在一些方面,任何一个或多个K残基被R残基替换,或者其中任何一个或多个R残基被K残基替换。在一些方面,任何一个或多个M残基被I、L或V残基中的任一个替换。在一些方面,任何一个或多个L残基被V、I、或M残基中的任一个替换。在一些方面,任何一个或多个I残基被M、L、或V残基中的任一个替换。在一些方面,任何一个或多个V残基被M、I、或L残基中的任一个替换。

[0041] 在一些方面,任何一个或多个G残基被A残基替换,或者其中任何一个或多个A残基被G残基替换。在一些方面,任何一个或多个S残基被T残基替换,或者其中任何一个或多个T残基被S残基替换。在一些方面,任何一个或多个Q残基被N残基替换,或者其中任何一个或多个N残基被Q残基替换。在一些方面,任何一个或多个D残基被E残基替换,或者其中任何一个或多个E残基被D残基替换。在一些方面,所述肽具有包含酸性区和碱性区的电荷分布。在一些方面,所述酸性区是小块(nub)。在一些方面,所述碱性区是小片(patch)。

[0042] 在一些方面,所述肽包含5-12个碱性残基。在一些方面,所述肽包含0-5个酸性残基。在一些方面,所述肽包含6个或更多个碱性残基和2个或更少个酸性残基。在一些方面,所述肽包含含有至少2个半胱氨酸残基和至少2个带正电的氨基酸残基的4-19个氨基酸残基片段。在一些方面,所述肽包含含有至少2个半胱氨酸残基、不超过2个碱性残基和至少2个带正电的氨基酸残基的20-70个氨基酸残基片段。在一些方面,所述肽包含至少3个带正电的氨基酸残基。在一些方面,所述带正电的氨基酸残基选自K、R或它们的组合。在一些方面,所述肽在生理pH下具有大于2的电荷。在一些方面,所述肽在生理pH下具有大于3.5的电荷。在一些方面,所述肽在生理pH下具有大于4.5的电荷。在一些方面,所述肽在生理pH下具有大于5.5的电荷。在一些方面,所述肽在生理pH下具有大于6.5的电荷。在一些方面,所述肽在生理pH下具有大于7.5的电荷。在一些方面,所述肽在生理pH下具有大于8.5的电荷。在一些方面,所述肽在生理pH下具有大于9.5的电荷。在一些方面,所述肽选自钾通道激动剂、

钾通道拮抗剂、部分钾通道、钠通道激动剂、钠通道拮抗剂、钙通道激动剂、钙通道拮抗剂、hadrucalcin、theraphotoxin、虎纹捕鸟蛛毒素、短肽蝎毒素、cobatoxin或凝集素。

[0043] 在另外的方面,所述凝集素是SHL-Ib2。在一些方面,所述肽与至少一个其他肽以多聚体结构排列。在一些方面,所述肽的至少一个残基包含化学修饰。在一些方面,所述化学修饰封闭所述肽的N末端。在另外的方面,所述化学修饰是甲基化、乙酰化或酰化。在一些方面,所述化学修饰是:一个或多个赖氨酸残基或其类似物的甲基化;所述N末端的甲基化;或一个或多个赖氨酸残基或其类似物的甲基化和所述N末端的甲基化。在一些方面,所述肽连接至酰基加合物。在一些方面,所述活性剂在所述肽的N末端或C末端处与所述肽融合。在一些方面,所述活性剂是另一种肽。在一些方面,所述活性剂是抗体。

[0044] 在一些方面,所述活性剂是Fc结构域、Fab结构域、scFv或Fv片段。在一些方面,所述活性剂是糖皮质激素。在一些方面,所述活性剂是去异丁酰基环索奈德(desciclesonide)。在一些方面,与所述Fc结构域融合的所述肽包含连续序列。在一些方面,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种活性剂连接至所述肽。在一些方面,所述肽在所述肽的N末端处、赖氨酸残基的 ϵ 胺处、天冬氨酸或谷氨酸残基的羧基处或C末端处通过接头连接至所述活性剂。在一些方面,所述肽经由可切割的接头连接至所述活性剂。在一些方面,所述肽还包含非天然氨基酸,其中所述非天然氨基酸是另一氨基酸的插入物、附加物或取代物。在一些方面,所述肽通过接头在所述非天然氨基酸处连接至所述活性剂。在另外的方面,所述接头包含酰胺键、酯键、氨基甲酸酯键、碳酸酯键、胺键、脲键、二硫键、硫酯键、硫醚键、三唑、碳-碳键或碳-氮键。在一些方面,所述接头包含酯键。

[0045] 在一些方面,所述可切割的接头包含基质金属蛋白酶、凝血酶、组织蛋白酶或 β -葡萄糖醛酸酶的切割位点。在一些方面,所述接头是水解不稳定的接头。在一些方面,所述接头是pH敏感性的、可还原的、谷胱甘肽敏感性的或蛋白酶可切割的。在一些方面,所述肽经由稳定的接头连接至所述活性剂。在一些方面,所述肽具有约9的等电点。在一些方面,所述肽连接至可检测剂。在一些方面,所述可检测剂在所述肽的N末端或C末端处与所述肽融合。在一些方面,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种可检测剂连接至所述肽。在一些方面,所述肽经由可切割的接头连接至所述可检测剂。在一些方面,所述肽在所述肽的N末端处、内部赖氨酸残基的 ϵ 胺处或C末端处通过接头连接至所述可检测剂。在一些方面,所述肽还包含非天然氨基酸,其中所述非天然氨基酸是另一氨基酸的插入物、附加物或取代物。

[0046] 在一些方面,所述肽通过接头在所述非天然氨基酸处连接至所述可检测剂。在一些方面,所述接头包含酰胺键、酯键、氨基甲酸酯键、胺键、脲键或碳-氮键。在一些方面,所述可切割的接头包含基质金属蛋白酶、凝血酶、组织蛋白酶或 β -葡萄糖醛酸酶的切割位点。在一些方面,所述肽经由稳定的接头连接至所述可检测剂。在一些方面,所述可检测剂是荧光团、近红外染料、造影剂、纳米颗粒、含金属的纳米颗粒、金属螯合物、X射线造影剂、PET剂、放射性同位素或放射性核素螯合剂。在一些方面,所述可检测剂是荧光染料。在一些方面,所述肽还包含连接序列。在一些方面,所述连接序列在所述肽的N末端或C末端处。在一些方面,所述连接序列包含1至100个氨基酸残基。

[0047] 在各个方面,本公开提供了一种药物组合物,所述药物组合物包含上述任何肽或其盐、上述任何肽活性剂复合物或其盐,和药学上可接受的载体。在一些方面,配制所述药物组合物以用于施用至受试者。在一些方面,配制所述药物组合物以用于吸入、鼻内施用、

口服施用、局部施用、肠胃外施用、静脉内施用、皮下施用、关节内施用、肌肉内施用、腹膜内施用、皮肤施用、经皮施用或它们的组合。

[0048] 在各个方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者的疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用上述任何肽、上述任何肽活性剂复合物或上述任何药物组合物。

[0049] 在一些方面,通过吸入、鼻内、口服、局部、肠胃外、静脉内、皮下、关节内、肌肉内施用、腹膜内、皮肤、经皮或它们的组合施用所述肽活性剂复合物、肽或药物组合物。在一些方面,所述肽活性剂复合物或所述肽在施用后归巢、靶向或迁移至所述受试者的软骨。在一些方面,所述疾患与软骨相关。在一些方面,所述疾患与关节相关。在一些方面,所述疾患是炎症、癌症、退化、生长紊乱、遗传的、撕裂、感染、疾病或损伤。在一些方面,所述疾患是软骨营养不良。在一些方面,所述疾患是创伤性破裂或脱离。在一些方面,所述疾患是肋软骨炎。在一些方面,所述疾患是疝出。在一些方面,所述疾患是多软骨炎。

[0050] 在其他方面,所述疾患是脊索瘤。在一些方面,所述疾患是一种类型的关节炎。在一些方面,所述类型的关节炎是类风湿性关节炎。在一些方面,所述类型的关节炎是骨关节炎。在一些方面,所述类型的关节炎是狼疮关节炎。在一些方面,所述疾患是系统性红斑狼疮。在一些方面,所述疾患是软骨发育不全。在一些方面,所述疾患是良性软骨瘤或恶性软骨肉瘤。在一些方面,所述疾患是滑囊炎、腱炎、痛风、假性痛风、关节病、银屑病关节炎、强直性脊柱炎或感染。在一些方面,施用所述肽活性剂复合物、肽或药物组合物以治疗所述损伤、以修复由所述损伤损害的组织、或以治疗由所述损伤引起的疼痛。在一些方面,施用所述肽活性剂复合物、肽或药物组合物以治疗所述撕裂或以修复由所述撕裂损害的组织。在一些方面,所述肽活性剂复合物、肽或药物组合物在施用后归巢、靶向或迁移至所述受试者的肾。在一些方面,所述疾患与肾相关。在一些方面,所述疾患是狼疮肾炎、急性肾损伤(AKI)、慢性肾疾病(CKD)、高血压性肾损害、糖尿病性肾病、狼疮肾炎或肾纤维化。

[0051] 在各个方面,本公开提供了一种对受试者的器官或身体区成像的方法,所述方法包括:向所述受试者施用上述任何肽、上述任何肽活性剂复合物或上述任何药物组合物;以及对所述受试者成像。

[0052] 在一些方面,所述方法还包括检测癌症或患病区、组织、结构或细胞。在一些方面,所述方法还包括对受试者进行外科手术。在一些方面,所述方法还包括治疗所述癌症。在一些方面,所述外科手术包括移除所述受试者的所述癌症或所述患病区、组织、结构或细胞。在一些方面,所述方法还包括在外科手术移除后对所述受试者的所述癌症或所述患病区、组织、结构或细胞成像。

[0053] 在一些方面,上述任何肽活性剂复合物表达为融合蛋白。

[0054] 在各个方面,本公开提供了一种根据上述方法将肽或肽剂复合物治疗或递送至有需要的受试者的方法,所述方法还包括施用伴随诊断剂、治疗剂或成像剂,其中所述伴随诊断剂或成像剂包含:a) 上述任何肽活性剂复合物,b) 上述任何肽;或c) SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148或SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256的肽,所述肽还包含诊断剂、治疗剂或成像剂,其中所述诊断剂或成像剂包括化学剂、放射标记剂、放射致敏剂、荧光团、成像剂、诊断剂、蛋白、肽或小分子。

[0055] 在一些方面,通过装置检测所述伴随诊断剂、治疗剂或成像剂。在一些方面,所述

装置用于检测所述伴随诊断剂、治疗剂或成像剂,或用于评定所述剂的安全性和生理效应。在一些方面,所述剂的安全性和生理效应是生物利用度、摄取、分布和清除、代谢、药代动力学、定位,测量血液和组织中的浓度,评定治疗窗、范围和优化。在一些方面,所述方法组合或整合进外科手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜、内窥镜或外科手术机器人,包括 KINEVO 900、QEVO、CONVIVO、OMPI PENTERO 900、OMPI PENTERO 800、INFRARED800、FLOW 800、OMPI LUMERIA、OMPI Vario、OMPI VARIO 700、OMPI Pico、TREMOR 3DHD、PROVIDO、ARVIDO、GLOW 800、Leica M530 OHX、Leica M530 OH6、Leica M720 OHX5、Leica M525 F50、Leica M525 F40、Leica M525 F20、Leica M525 OH4、Leica HD C100、Leica FL560、Leica FL400 Leica FL800、Leica DI C500、Leica ULT500、Leica可旋转分束器、Leica M651 MSD、LIGHTENING、Leica TCS SP8、SP8 FALCON、SP8 DIVE、Leica TCS SP8 STED、Leica TCS SP8DLS、Leica TCS SP8 X、Leica TCS SP8 CARS、Leica TCS SPE)、Leica HyD、Leica HCS A、Leica DCM8、Haag-Streit 5-1000、Haag-Streit 3-1000和Intuitive Surgical da Vinci外科手术机器人。在一些方面,所述装置结合放射学或荧光,包括X射线放射摄影、磁共振成像(MRI)、超声、内窥镜检查、弹性成像、触觉成像、热成像、流式细胞术、医学摄影、核医学功能成像技术、正电子发射断层显像(PET)、单光子发射计算机断层显像(SPECT)、外科手术器械、手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜或外科手术机器人。

[0056] 在一些方面,所述肽包含以下项中的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个或全部:KCIN(SEQ ID NO:91);PCKR(SEQ ID NO:93);KQC(SEQ ID NO:95);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);或GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。

[0057] 在一些方面,所述肽包含以下项中的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个或全部:RCIN(SEQ ID NO:97);PCRR(SEQ ID NO:99);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRR(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);RCRGSRDC(SEQ ID NO:257);PCRRAG(SEQ ID NO:258);或RFGRCI(SEQ ID NO:259)。

[0058] 在一些方面,所述肽包含以下项中的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个或全部:GKCINKKCKC(SEQ ID NO:90);KCIN(SEQ ID NO:91);KKCK(SEQ ID NO:92);PCKR(SEQ ID NO:93);KRCSRR(SEQ ID NO:94);KQC(SEQ ID NO:95);GRCINRRRCRC(SEQ ID NO:96);RCIN(SEQ ID NO:97);RRCR(SEQ ID NO:98);PCRR(SEQ ID NO:99);RRCSRR(SEQ ID NO:100);RQC(SEQ ID NO:101);PCKK(SEQ ID NO:102);KKCSKK(SEQ ID NO:103);GKCMNGKC(SEQ ID NO:104);GRCMNGRC(SEQ ID NO:105);GRCINSRC(SEQ ID NO:227);GRCIXXRC(SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC(SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R(SEQ ID NO:229);PCR(SEQ ID NO:230);CLDPCRR(SEQ ID NO:231);CLDPCRR(SEQ ID NO:232);

RCRGSRDC (SEQ ID NO:257); PCRRAG (SEQ ID NO:258); 和RFGRCI (SEQ ID NO:259)。

[0059] 在一些方面,所述肽还包含选自由以下组成的组的相应取代中的至少两个、至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个或全部:N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y、T36Y、D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

[0060] 以引用方式并入

[0061] 将本说明书中提及、公开或引用的所有出版物、专利和专利申请以引用方式整体并入本文,并且其程度就像明确且单独地指出每一个单独的出版物、专利或专利申请以引用方式并入一样。

附图说明

[0062] 本发明的新颖特征在所附权利要求书中具体阐述。通过参考对说明性实施方案进行阐述的以下详细说明,将获得对本公开的特征和优点的更好理解,在所述实施方案中利用了本公开的原理,并且在所述附图中:

[0063] 图1示出了用SEQ ID NO:150的肽处理的动物的关节和其他软骨中¹⁴C信号的鉴定。

[0064] 图2示出了表达SEQ ID NO:X的序列的构建体的示例性架构,其中X可以是SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。

[0065] 图3示出了制造本公开的肽的方法的示意图。

[0066] 图4示出了用SEQ ID NO:150的肽处理后24小时具有完整肾的动物的软骨中的¹⁴C信号。

[0067] 图5显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A) 的SEQ ID NO:149 (在本文中也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示) 的肽后24小时,小鼠的白光图像和相应的全身荧光图像。图5A示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A) 的SEQ ID NO:149的肽后24小时,小鼠的冷冻切片的图像。图5B示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A) 的SEQ ID NO:149的肽后24小时,对应于图5A中显示的切片,小鼠中的荧光信号。图5C示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A) 的SEQ ID NO:46 (在本文中也公开为SEQ ID NO:149;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示) 的肽后24小时,小鼠的不同冷冻切片的图像。图5D示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A) 的SEQ ID NO:149的肽后24小时,对应于图5C中显示的切片,小鼠中的荧光信号。图5E示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A) 的SEQ ID NO:149的肽后24小时,小鼠的不同冷冻切片的图像。图5F示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A) 的SEQ ID NO:149的肽后24小时,对应于图5E中显示的切片,小鼠中的荧光信号。

[0068] 图6示出了SEQ ID NO:198-SEQ ID NO:215的多序列比对被用于预测增强的肽稳定性和免疫原性或其他功能。SEQ ID NO:87是共有序列,并且SEQ ID NO:21是与SEQ ID NO:87相同的序列,但具有N末端“GS”。SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:222是变体共有肽序列,包括在SEQ ID NO:87和SEQ ID NO:21共有序列家族中,所述变体共有序列包括如本文所述的肽的进一步改善的特性,具有或不具有N末端GS。

[0069] 图7示出了用SEQ ID NO:150的肽处理的动物的鼻、脊柱、气管和其他软骨中¹⁴C信号定位的鉴定。

[0070] 图8显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:46A;同样与SEQ ID NO:149A一样,因为SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:149公开了相同的序列;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的SEQ ID NO:149肽后,来自第一小鼠的分离的后肢和来自第二小鼠的分离的后肢的IVIS荧光成像。低信号强度的区域用细实线显示,中信号强度的区域用粗实线显示,并且高信号强度区域用细虚线显示。图8A显示了在肽施用后3小时来自移除了皮肤的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8B显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149肽后3小时,来自移除了肌肉的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8C显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149肽后24小时,来自移除了皮肤的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8D显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149肽后24小时,来自移除了肌肉的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8E显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149肽后48小时,来自移除了皮肤的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8F显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149肽后48小时,来自移除了肌肉的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8G显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149肽后72小时,来自移除了皮肤的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8H显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团 (SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149肽后72小时,来自移除了肌肉的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。

[0071] 图9示出了在施用100nmol的放射标记的SEQ ID NO:149的肽后3小时,来自小鼠的冷冻切片的放射自显影图像。图9A示出了在施用100nmol的放射标记的SEQ ID NO:149 (也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽后3小时,小鼠的不同冷冻切片中的¹⁴C信号。图9B示出了在施用100nmol放射标记的SEQ ID NO:149的肽后3小时,小鼠的不同冷冻切片中的¹⁴C信号。

具体实施方式

[0072] 本公开总体上涉及用于软骨治疗的组合物和方法。在一些实施方案中,本文的组合物和方法利用在施用至受试者后归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨的截短的或突变的肽。在一些实施方案中,本公开的截短的或突变的软骨归巢肽在软骨或其组织或细胞中发挥治疗效果。在一些实施方案中,本公开的截短的或突变的软骨归巢肽用于将活性剂递送至软骨或其组织或细胞。所述活性剂能对软骨或其组织或细胞发挥治疗效果。例如,在某些实施方案中,所述截短的或突变的肽本身或活性剂允许将抗炎剂或其他剂局部递送至软骨或其组织或细胞。作为另一个实例,所述活性剂是可用于软

骨的成像的荧光团。在某些实施方案中,所述截短的或突变的肽本身诱导治疗应答。

[0073] 软骨病症特别难以治疗。活性剂施用的直接途径可以是肠胃外(例如,静脉内、皮下、肌肉内)、关节内、通过吸入、皮肤、局部、或口服。然而,软骨可能是无血管的,因此静脉内施用药物可能无法大量到达软骨。用于软骨疾病如骨关节炎的药物可以直接局部注射到受影响区域,例如,直接注射到关节中。很少有旨在治疗软骨病症的药物证明在治疗上是可行的,缺乏进入靶组织是导致失败的主要原因。如果药物可以归巢、靶向、或被导向至、被保留于和/或结合至靶区、组织、结构或细胞,则缺乏进入靶组织也会导致施用高于所需剂量的剂量。因此,软骨疾患的治疗通常需要使用高浓度的非特异性药物。此外,许多治疗剂的目的是治疗关节障碍,但由于药物全身施用引起的副作用的水平而成问题(Dancevic和McCulloch, *Arthritis Res Ther*.16:429 (2014))。

[0074] 能够接触软骨的特异性和有效药物可以通过选择性地靶向和递送化合物到特定区、组织、细胞和结构来抵消许多治疗的非特异性。这些药物还可用于调节离子通道、蛋白-蛋白相互作用、胞外基质重塑(即,蛋白酶抑制)等。这种靶向疗法可以允许降低的剂量、减少的副作用、改善的患者顺应性以及治疗结果的改善,这不仅在软骨的急性疾病中是有利的,而且在慢性疾患中也是有利的。

[0075] 本公开提供了可包含或可衍生自胱氨酸密集肽的截短的或突变肽。如本文所用,术语“胱氨酸密集肽”可与术语“打结的肽”、“打结素(knottin)”和“optide”互换,并且胱氨酸密集肽也可缩写为“CDP”。出于本公开的目的,希金斯(Hitchins),以及其他含有二硫化物的肽也可被认为是“打结的肽”或“胱氨酸密集肽”。例如,打结素是一类胱氨酸密集肽,其在长度上包含约11至约80个氨基酸,通常折叠成紧密结构。打结素和其他胱氨酸密集肽典型地组装成复杂的三级结构,其特征在于许多分子内二硫键交联,并且可以含有 β 链、一个或多个 α 螺旋和其他二级结构。二硫键的存在可以使胱氨酸密集肽具有显著的环境稳定性,允许它们能够承受极端的温度和pH、抵抗血流或消化道中的蛋白水解酶,并且可以提供特定的生物分布、药代动力学、结合相互作用、细胞加工或其他生理和治疗价值的特性。本文所公开的截短的或突变的肽可衍生自某些胱氨酸密集肽。本公开描述了一类胱氨酸密集肽,其可以有效地接触软骨并且可以直接使用或作为活性药物、肽或分子的载体用于治疗软骨疾患。例如,骨关节炎是一种软骨疾患,其与覆盖骨末端的软骨变薄(导致骨直接接触关节内的骨)相关。随时间推移,骨的末端受到摩擦的水平增加,最终导致骨末端的侵蚀。患有骨关节炎的个体经历运动减少和疼痛增加。治疗性肽可以接触骨的关节和末端的软骨以及与软骨细胞相互作用并且诱导胞外基质蛋白的增加的表达,所述治疗性肽可以通过增加胶原蛋白的表达(例如,生产速率、生产量、抑制降解胶原蛋白的蛋白、促进维持现有胶原蛋白完整性的其他蛋白的表达或其他机制)来治疗和预防骨关节炎。肽还可以影响附近的组织或细胞,如骨、韧带、肌肉、腱、粘液囊、结缔组织、血管、外周神经、破骨细胞、成骨细胞、成纤维细胞、滑膜细胞、单核细胞/巨噬细胞、淋巴细胞、浆细胞、脂肪细胞、内皮细胞,神经元、韧带、肌肉、腱和粘液囊。本公开的截短的或突变的肽可用于治疗各种疾患的症状。本公开的截短的或突变的肽可以结合至、归巢至、迁移至、积聚于、被保留于或被导向至软骨及其组分,包括软骨细胞、胞外基质、胶原蛋白、透明质酸、聚集蛋白聚糖(也称为软骨特异性蛋白多糖核心蛋白(CSPCP))或胞外基质和关节的其他组分或如以上所列的关节和软骨组织中的如本文所述的那些的其他附近组分。

[0076] 本文还描述了选择性地归巢、靶向、被导向至、迁移至、被保留于或积聚于和/或结合至软骨的特定区、组织、结构或细胞的截短的或突变的肽,所述截短的或突变的肽有助于管理、减少、消除或减轻由于如本文所述的慢性疾病或软骨损伤或其他治疗适应症引起的疼痛(例如,关节疼痛)。归巢、靶向、迁移至、被导向至、被保留于或积聚于和/或结合至软骨的一个或多个特定区、组织、结构或细胞的截短的或突变的肽可具有较少的脱靶和潜在的负面影响,例如,通常限制止痛药的使用和功效的副作用。此外,通过这些截短的或突变的肽直接靶向软骨的特定区、组织、结构或细胞并帮助接触软骨或增加局部剂的浓度,这些截短的或突变的肽可以减少剂量并提高现有药物的功效。所述截短的或突变的肽本身可调节疼痛,或者它可与调节疼痛的剂复合、缀合或融合。这种疼痛调节可以通过各种机制起作用,如调节炎症、自身免疫应答、对疼痛受体的直接或间接作用、细胞杀伤或程序性细胞死亡(无论是经由患病细胞或组织等的凋亡和/或非凋亡途径(Tait等人,J Cell Sci 127 (Pt 10):2135-44 (2014))。

[0077] 本公开的归巢、靶向、被导向至、迁移至、被保留于、积聚于或结合至软骨的特定区、组织、结构或细胞的截短的或突变的肽可以以不同的效率程度起作用。截短的或突变的肽在软骨中的浓度可能高于在其他位置如血液或肌肉中的浓度。可以将肽记录为在软骨中具有的信号作为血中信号的百分比。例如,200%的软骨信号表明软骨中的信号是血中信号的两倍。在一些实施方案中,具有软骨归巢特性的肽可通过射线照相光密度测定法测量具有>170%的软骨信号。在其他实施方案中,作为软骨归巢的肽可通过射线照相光密度测定法测量具有>200%的软骨信号。在其他实施方案中,具有更有效软骨归巢的肽可通过射线照相光密度测定法测量具有>300%的软骨信号。在其他实施方案中,具有更有效软骨归巢的肽可通过射线照相光密度测定法测量具有>400%的软骨信号。在其他实施方案中,具有最高兴趣的最强软骨归巢的肽可通过射线照相光密度测定法测量具有>500%的软骨信号。在一些实施方案中,在血、肌肉或其他组织中肽浓度相对于在软骨中肽浓度的比率的测量可以通过使用各种方法,包括测量用放射性同位素标记的肽的光密度信号(如上所述),或通过使用其他测定法进行。

[0078] 选择性地归巢、靶向、被导向至、迁移至、被保留于、或积聚于和/或结合至软骨的特定区、组织、结构或细胞的截短的或突变的肽可在将所述肽施用至受试者后发生。受试者可以是人或非人动物。

[0079] 本文所公开的截短的或突变的肽可用作活性剂,或与检测剂(如荧光团、含碘化物的X射线造影剂、钆系螯合物(例如,用于MRI成像的钆)、全氟化碳(用于超声)或用于成像和示踪所述截短的或突变的肽的PET示踪物(例如,18F或11C))复合、缀合或融合,或与如抗炎活性剂或其他活性剂的剂复合、缀合或融合至关节以治疗炎症或其他疾病。

[0080] 本文所公开的截短的或突变的肽可用于离体结合软骨外植体。软骨外植体可来自任何受试者,如人或动物。截短的或突变的肽与软骨外植体结合的评定可用于筛选可在体内有效归巢至软骨的肽。

[0081] 在一些实施方案中,本公开的截短的或突变的肽归巢、靶向、被导向至、迁移至、被保留于、积聚于或结合至肾的特定区、组织、结构或细胞。例如,在一些实施方案中,本公开的截短的或突变的肽归巢、靶向、被导向至、迁移至、被保留于、积聚于或结合至肾的近端小管、肾的肾单位或足细胞。选择性地归巢、靶向、被导向至、迁移至、被保留于、或积聚于和/

或结合至肾的特定区、组织、结构或细胞的肽可在将肽施用受试者后发生。受试者可以是人或非人动物。本文所公开的截短的或突变的肽可用作活性剂,或与检测剂(如荧光团、含碘化物的X射线造影剂、镧系螯合物(例如,用于MRI成像的钆)、全氟化碳(用于超声)或用于成像和示踪所述截短的或突变的肽的PET示踪物(例如,18F或11C))复合、缀合或融合,或与如抗炎剂或其他剂的剂复合、缀合或融合至肾以治疗肾癌、慢性肾衰竭或其他肾疾病。

[0082] 肽作为治疗剂的进步和广泛使用的一个障碍是肽可能在化学上和物理上不稳定。在制造治疗性肽的过程中,基本考虑因素可包括储存条件、持续的生化功能和体内递送。肽降解产物可导致改变所述肽的安全性特征、效力和免疫原性的物质的形成。这些肽降解产物可在制造和储存期间以及在递送至患者后在体内形成。此外,由于不稳定的肽需要在干冰上冷藏或运输,肽降解可能限制保质期并增加生产成本。后者可能需要肽的连续监测和验证,因为在制造过程中可能形成降解产物。因此,迫切需要治疗性肽的基本原理设计和生产,所述肽例如在周围环境中、在制造过程中、在储存过程中具有增强的稳定性,并且防止在各种条件下肽降解的可能性。

[0083] 在一些实施方案中,本公开的截短的或突变的肽和截短的或突变的肽-药物缀合物具有使截短的或突变的肽或截短的或突变的肽-药物缀合物降解最小化以实现充分储存的稳定性特性。本公开的截短的或突变的肽和截短的或突变的肽-药物缀合物的长期、加速和中期储存条件可包括 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/60\%$ 相对湿度(RH) $\pm 5\%$ RH或 $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/65\%$ RH $\pm 5\%$ RH持续至少6个月、至少12个月和长达1年、长达2年、长达3年、长达4年或超过4年的长期储存条件。此外,中期和短期储存条件(例如,在运输、分配、制造或处理期间),或某些气候和基础设施的长期储存条件,可包括 $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/65\%$ RH $\pm 5\%$ RH或 $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\%$ RH $\pm 5\%$ RH持续长达1小时、持续长达8小时、持续长达1天、持续长达3天、持续长达1周、持续长达1个月、持续长达3个月、持续长达6个月或至少6个月、长达1年、长达2年、长达3年、长达4年或超过4年的储存条件。另外,本公开的截短的或突变的肽和截短的或突变的肽-药物缀合物可以例如在 $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ 之间冷藏至少6个月、至少12个月和长达1年、长达2年、长达3年、长达4年或超过4年。此外,中期和短期冷藏条件(例如,在运输、分配、制造或处理期间),可包括 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/60\%$ RH $\pm 5\%$ RH持续长达1小时、持续长达8小时、持续长达1天、持续长达3天、持续长达1周、持续长达1个月、持续长达3个月、持续长达6个月或至少6个月和潜在地更久(至少12个月和长达1年、长达2年、长达3年、长达4年或超过4年)。无论是基于环境条件或是冷藏条件,这些储存条件都可以根据世界上的四个区域(它们以其特有的普遍年度气候条件而区分)进行调整(例如,国际人类用药技术要求协调委员会(ICH)稳定区域I、II、III或IV)。此外,可以原则上针对以下能力选择配制品组分:能够通过防止疏水相互作用和聚集引起的变性,以及通过防止化学降解,包括截短、氧化、脱酰胺、切割、水解、异构化、二硫化物交换、外消旋化和 β 消除来保持本公开的肽和肽-药物缀合物在储存中的天然构象和化学结构(Cleland等人, Crit Rev Ther Drug Carrier Syst 10(4):307-377(1993); Shire等人, J Pharm Sci 93(6):1390-1402(2004); Wakankar和Borchardt, J Pharm Sci 95(11):2321-2336(2006))。

[0084] 在一些实施方案中,本公开的截短的或突变的肽和截短的或突变的肽-药物缀合物已并入使所述肽和肽-药物缀合物的免疫原性最小化的特性。免疫原性可能是治疗性肽和蛋白开发的主要问题,并且迫切需要具有降低的免疫原性并增加其安全性和功效的治疗

性肽的基本原理设计和生产。针对所需的肽序列或肽降解产物可以发生免疫原性。当患者对治疗性肽、蛋白、缀合物或其他药物产生免疫应答时,如通过产生结合和/或中和治疗性肽、蛋白、缀合物或其他药物的抗体,可以发生免疫原性。当不止一次或长期施用药物时,免疫原性的可能性会增加。免疫原性可以减少患者暴露于药物,可以降低药物的有效性,并且还可以导致患者的安全性风险,如产生对自身蛋白的免疫应答或与对治疗肽、蛋白、缀合物或其他药物的免疫原性增加相关的其他不良应答。免疫原性应答可以随患者而变化,并且也可以在不同的HLA等位基因组之间以及随着时间的推移而变化。因此,用治疗性肽或蛋白时最小化免疫原性的风险对于开发可以有效且安全地用于治疗的药物可能是重要的。存在用于评估免疫原性潜力的各种方法,这些方法可包括计算机方法、体外测试、临床前体内测试和临床给药期间的评估。在其起作用的体内环境(例如,在炎性环境中或在生理pH下)中对本公开的治疗性肽和肽-药物缀合物的产品设计和开发的早期评价可以揭示可能导致功效丧失或免疫应答诱导的修饰(例如,聚集和脱酰胺)的易感性。此类信息可用于促进产品工程化以增强产品在此类体内条件下的稳定性或降低免疫原性。另外,可以设计本公开的治疗性截短的或突变的肽和截短的或突变的肽-药物缀合物以使蛋白聚集最小化。最小化聚集体形成的策略可以在药物开发的早期使用,例如,通过使用适当的细胞基质,选择使聚集体形成最小化的制造条件,采用尽可能地去聚集体的稳健的纯化方案,并且选择最大限度地减少存储期间的聚集的配制品和容器封闭系统。

[0085] 从以下详细说明中,本公开的其他方面和优点对于本领域技术人员将变得显而易见,其中显示和描述了本公开的说明性实施方案。如将认识到的,本公开能够具有其他和不同的实施方案,并且其若干细节能够在各个方面进行修改,所有这些都不脱离本公开。因此,应将附图和说明视为说明性的,而不是限制性的。

[0086] 如本文所用,天然L-对映异构体氨基酸的缩写是常规的并且如下:丙氨酸(A, Ala);精氨酸(R, Arg);天冬酰胺(N, Asn);天冬氨酸(D, Asp);半胱氨酸(C, Cys);谷氨酸(E, Glu);谷氨酰胺(Q, Gln);甘氨酸(G, Gly);组氨酸(H, His);异亮氨酸(I, Ile);亮氨酸(L, Leu);赖氨酸(K, Lys);甲硫氨酸(M, Met);苯丙氨酸(F, Phe);脯氨酸(P, Pro);丝氨酸(S, Ser);苏氨酸(T, Thr);色氨酸(W, Trp);酪氨酸(Y, Tyr);缬氨酸(V, Val)。典型地,Xaa可以指示任何氨基酸。在一些实施方案中,X可以是天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q)、组氨酸(H)、赖氨酸(K)或精氨酸(R)。

[0087] 本公开的一些实施方案考虑任何标准或非标准氨基酸或其类似物的D-氨基酸残基。当氨基酸序列表示为一系列三字母或单字母氨基酸缩写时,根据标准用法和惯例左手方向是氨基末端方向,并且右手方向是羧基末端方向。

[0088] 肽

[0089] 本文中的胱氨酸密集肽能以抗体样亲和力结合靶标。胱氨酸密集肽可以调节多个软骨区、组织、结构或细胞的活性。例如,在一些实施方案中,所述胱氨酸密集肽复合、缀合或融合至归巢至患病关节的软骨的骨修饰药物,并释放药物,在没有肽的软骨靶向功能的情况下,在骨侵蚀或受损的区域中产生更高的局部药物浓度。所述胱氨酸密集肽可以复合、缀合或融合至药物,所述药物可以影响附近的组织或细胞,如骨、韧带、肌肉、腱、粘液囊、结缔组织、血管、外周神经、破骨细胞、成骨细胞、成纤维细胞、滑膜细胞、单核细胞/巨噬细胞、淋巴细胞、浆细胞、脂肪细胞、内皮细胞,神经元、韧带、肌肉、腱和粘液囊。复合、缀合或融合

至药物的所述胱氨酸密集肽可以结合至、归巢至、迁移至、积聚于、被保留于或被导向至软骨及其组分,包括软骨细胞、胞外基质、任何类型的胶原蛋白、透明质酸、聚集蛋白聚糖(也称为软骨特异性蛋白多糖核心蛋白(CSPCP))、蛋白多糖、糖胺聚糖、糖蛋白、核心蛋白聚糖、双糖链蛋白多糖、纤调蛋白或胞外基质和关节的其他组分或如以上所列的关节和软骨组织中的如本文所述的那些的其他附近组分。肽和肽-药物缀合物可以靶向以治疗软骨相关病症的一些软骨区、组织和结构包括:(a)弹性软骨;(b)透明软骨,如关节软骨和生长软骨(physeal cartilage);(c)纤维软骨;和(d)在以上(a)-(c)中的任何细胞或细胞类型。其中所述肽和肽-药物缀合物可以靶向以治疗软骨相关病症的一些区域包括:软骨,包括关节,如膝、髌或足趾、鼻软骨、脊椎软骨、气管软骨和肋软骨。在各个方面,软骨组分包括聚集蛋白聚糖和II型胶原蛋白。另外,在一些实施方案中,胱氨酸密集肽可以穿透进入细胞。在其他实施方案中,胱氨酸密集肽不进入细胞。在其他实施方案中,与其他类型的分子相比,胱氨酸密集肽展现出更快的清除和细胞摄取。

[0090] 本公开的肽可包含半胱氨酸氨基酸残基。在一些情况下,所述肽具有至少4个半胱氨酸氨基酸残基。在一些情况下,所述肽具有至少6个半胱氨酸氨基酸残基。在其他情况下,所述肽具有至少8个半胱氨酸氨基酸残基、至少10个半胱氨酸氨基酸残基、至少12个半胱氨酸氨基酸残基、至少14个半胱氨酸氨基酸残基或至少16个半胱氨酸氨基酸残基。

[0091] 胱氨酸密集肽可包含二硫桥。胱氨酸密集可以是肽,其中5%或更多的残基是半胱氨酸,形成分子内二硫键作为胱氨酸。二硫化物连接的肽可以是药物支架。在一些实施方案中,所述二硫桥形成抑制剂结。二硫桥可以在半胱氨酸残基之间形成,例如,在半胱氨酸1和4、2和5、或3和6之间形成。在一些情况下,一个二硫桥穿过由另外两个二硫桥形成的环,例如,以形成抑制剂结。在其他情况下,所述二硫桥可以在任何两个半胱氨酸残基之间形成。

[0092] 本公开还包括肽支架,所述肽支架例如可用作产生可以靶向和归巢至软骨的其他肽的起始点。在一些实施方案中,这些支架可衍生自多种胱氨酸密集肽。在某些实施方案中,将胱氨酸密集肽组装成复杂的三级结构,其特征在于许多分子内二硫化物交联,并且任选地含有 β 链和其他二级结构,如 α 螺旋。例如,在一些实施方案中,胱氨酸密集肽包括小的富含二硫化物的蛋白,其特征在于二硫化物通过二硫化物结。例如,当一个二硫桥穿过由另外两个二硫化物和互相连接骨架形成的大环时,可获得这种结。在一些实施方案中,所述胱氨酸密集肽可包括生长因子半胱氨酸结或抑制剂半胱氨酸结。其他可能的肽结构可包括具有两个平行螺旋的肽,所述两个平行螺旋通过两个二硫桥连接而没有 β -折叠(例如,hefutoxin)。

[0093] 胱氨酸密集肽可包含至少一个呈L构型的氨基酸残基。胱氨酸密集肽可包含至少一个呈D构型的氨基酸残基。在一些实施方案中,胱氨酸密集肽是15-40个氨基酸残基长。在其他实施方案中,胱氨酸密集肽是11-57个氨基酸残基长。在另外的实施方案中,胱氨酸密集肽是至少20个氨基酸残基长。

[0094] 在一些实施方案中,软骨归巢肽是序列GSXVXIXVKCXGSXQCLXPCKXAXGXRXGKCMNGKCXCXPXX (SEQ ID NO:21) 或XVXIXVKCXGSXQCLXPCKXAXGXRXGKCMNGKCXCXPXX (SEQ ID NO:87) 的家族成员,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无,其中这些序列基于以下序列中发现的最常见元件:-VRIPVSCKHSGQCLKPCKDA-GMRFGKCMNGKCDCTPK-(SEQ ID NO:198)、GVPINVKCRGSRDCLDPCKKA-GMRFGKCINSKCHCTP--(SEQ ID NO:199)、---EVIRCSGSK

QCYGPCKQQTGCTNSKCMNVCKCYGCG (SEQ ID NO:200)、GVIINVCKKISRQCLEPCKKA-GMRFGKCMNGKCHCTPK- (SEQ ID NO:201)、GVPTDVKCRGSPQCIQPKDA-GMRFGKCMNGKCHCTPK- (SEQ ID NO:202)、GVPIINVSTGSPQCIKPKDA-GMRFGKCMNRKCHCTPK- (SEQ ID NO:203)、-VGINVCKHSGQCLKPKDA-GMRFGKCMNGKCDCTPK- (SEQ ID NO:204)、GVPIINVRCGRSDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTPK- (SEQ ID NO:205;本文中公开为SEQ ID NO:128;SEQ ID NO:205和SEQ ID NO:128的GS版本在SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:149中显示)、QKILSNRCNNSSECIPHCIRIFGTRAAKCNRKCYCYP- (SEQ ID NO:206)、-VFINVKCRGSPECLPKCKEAIKGSAGKCMNGKCKCYP- (SEQ ID NO:207)、-VPTDVKCRGSPQCIQPKDA-GMRFGKCMNGKCHCTPK- (SEQ ID NO:208)、--AEIIRCSGTRECYAPCQKLTGCLNAKCMNKACKCYGCV (SEQ ID NO:209)、-RPTDIKCSASYQCFPVCKSRFGKTNGRCVNGLCDCF- (SEQ ID NO:210)、-QFTDVKCTGSKQWPVCKQMFQKPNKCMNGKCR CYS- (SEQ ID NO:211)、-VGINVCKHSRQCLKPKDA-GMRFGKCTNGKCHCTPK- (SEQ ID NO:212)、-VVIGQRCYRSPDCYSACKKLVGKATGKCTNGRCDC- (SEQ ID NO:213)、--NFKVEGACSKPCRKYCIDK-GARNGKCMNGKCHCTPK- (SEQ ID NO:214)和QIDTNVCKSGSSKCVKICIDRYNTRGAKCMNGKCHCTPK- (SEQ ID NO:215)。此外,指示为SEQ ID NO:128(也显示为SEQ ID NO:205)和SEQ ID NO:149(也显示为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽被排除在包含SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:87的肽之外(或不包括在其中)。

[0095] 在一些实施方案中,所述软骨归巢肽是序列GSXVXIXVRCXGSXQCLXPCRAXGXRXGRCMNGRCXCXPXX (SEQ ID NO:22)或XVXIXVRCXGSXQCLXPCRAXGXRXGRCMNGRCXCXPXX (SEQ ID NO:88)的家族成员,其中每个X可单独地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无,其中这些序列基于以下序列中发现的最常见元件,并且K与R互换:SEQ ID NO:198-SEQ ID NO:215。

[0096] 在一些实施方案中,肽包含序列GSGVPIX¹VRCGRSDCX²X³PCRRAGX⁴RFGRCIX⁵X⁶RCX⁷CX⁸P (SEQ ID NO:23)或GVPIX¹VRCGRSDCX²X³PCRRAGX⁴RFGRCIX⁵X⁶RCX⁷CX⁸P (SEQ ID NO:89),其中以下残基其中X¹选自N、S、或G,其中X²选自L或Y,其中X³选自D或E,其中X⁴选自M或T,其中X⁵选自N、Q、A、S、T、或L,其中X⁶选自S、G、或R,其中X⁷选自H或Y,并且其中X⁸选自T或Y。在一些实施方案中,SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:89中的零或一个或多个R残基可以被K残基替换。在一些实施方案中,SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:89中的零或一个或多个R残基可以被任何组合的A残基替换。在其他实施方案中,SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:89中的零或一个或多个R残基可以各自被K或A残基替换。在一些实施方案中,SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:89中的残基X¹至X⁸中的至少一个但不是所有八个残基在指示位置处在以下残基处被排除:其中X¹是N,其中X²是L,其中X³是D,其中X⁴是M,其中X⁵是N,其中X⁶是S,其中X⁷是H,并且其中X⁸是T。此外,以下肽(也指示为SEQ ID NO:128或SEQ ID NO:205,分别为SEQ ID NO:149或SEQ ID NO:46)被排除在本公开的肽之外(或不包括在其中):其中SEQ ID NO:23或SEQ ID NO:89中的残基X¹至X⁸中的所有八个残基在指示位置处包括以下残基:X¹是N,其中X²是L,其中X³是D,其中X⁴是M,其中X⁵是N,其中X⁶是S,其中X⁷是H,并且其中X⁸是T。此外,指示为SEQ ID NO:128(也显示为SEQ ID NO:205)和SEQ ID NO:149(也显示为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽被排除在包含SEQ ID NO:23和SEQ ID NO:89的肽之外(或不包括在其中)。

[0097] 在一些实施方案中,软骨归巢肽是序列GSRGRSDCX¹X²PCRRAGX³RFGRCIX⁴X⁵RCX⁶C

X⁷P (SEQ ID NO:24) 或RCRGSRD¹CX²PCRRAGX³RFGRCIX⁴X⁵RCX⁶CX⁷P (SEQ ID NO:106) 的家族成员,其中X¹选自L或Y,其中X²选自D或E,其中X³选自M或T,其中X⁴选自N、Q、A、S、T或L,其中X⁵选自S、G或R,其中X⁶选自H或Y,并且其中X⁷选自T或Y。此外,指示为SEQ ID NO:128 (也显示为SEQ ID NO:205) 和SEQ ID NO:149 (也显示为SEQ ID NO:46) 的肽被排除在包含SEQ ID NO:24和SEQ ID NO:106的肽之外 (或不包括在其中)。在一些实施方案中,软骨归巢肽是序列GSKCXGSXQCLXPCKXAXGXRXGKCMNGKXCXCPXX (SEQ ID NO:25) 或KCXGSXQCLXPCKXAXGXRXGKCMNGKXCXCPXX (SEQ ID NO:107) 的家族成员,其中每个X可单独地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。在一些实施方案中,软骨归巢肽是序列GSRCXGSXQCLXPCRAXGXRXGRCMNGRCXCPXX (SEQ ID NO:26) 或RCXGSXQCLXPCRAXGXRXGRCMNGRCXCPXX (SEQ ID NO:108) 的家族成员,其中每个X可单独地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。

[0098] 在一些实施方案中,肽包含序列XVX₁IXVX₁CXGSXX₂CX₃X₄PCX₅XAXGX₆RXGX₇CX₈X₉X₁₀X₁₁CX₁₂CX₁₃P (SEQ ID NO:219), 其中每个X和X₁₋₁₃单独地是任何氨基酸或无氨基酸,并且在指示位置处的以下残基中的至少一个残基、在指示位置处的以下残基中的超过一个残基、或在指示位置处的以下残基中的所有残基包括在SEQ ID NO:219中:X₁是K,X₂是Q,X₃是Y,X₄是E,X₅是K,X₆是T,X₇是K,X₈是M,X₉是Q、A、S、T或L,X₁₀是G,X₁₁是K,X₁₂是Y,或者X₁₃是Y或GSXVXI XVX₁CXGSXX₂CX₃X₄PCX₅XAXGX₆RXGX₇CX₈X₉X₁₀X₁₁CX₁₂CX₁₃P (SEQ ID NO:220), 其中每个X和X₁₋₁₃独立地是任何氨基酸或无氨基酸,并且在指示位置处的以下残基中的至少一个残基、在指示位置处的以下残基中的超过一个残基、或在指示位置处的以下残基中的所有残基包括在SEQ ID NO:220中:X₁是K,X₂是Q,X₃是Y,X₄是E,X₅是K,X₆是T,X₇是K,X₈是M,X₉是Q、A、S、T或L,X₁₀是G,X₁₁是K,X₁₂是Y,或者X₁₃是Y。SEQ ID NO:219和SEQ ID NO:220是变体共有肽序列,包括在SEQ ID NO:87和SEQ ID NO:21共有序列家族中,所述变体共有序列包括具有如本文所述的肽的进一步改善的特性的、具有或不具有N末端GS的变体。在一些实施方案中,在指示位置处的以下残基中的至少两个残基、在指示位置处的以下残基中的至少三个残基、在指示位置处的以下残基中的至少四个残基、在指示位置处的以下残基中的至少五个残基、在指示位置处的以下残基中的至少六个残基、在指示位置处的以下残基中的至少七个残基、在指示位置处的以下残基中的至少八个残基、在指示位置处的以下残基中的至少九个残基、在指示位置处的以下残基中的至少十个残基、在指示位置处的以下残基中的至少十一个残基、或在指示位置处的以下残基中的至少十二个残基分别包括在SEQ ID NO:219和SEQ ID NO:220中:在SEQ ID NO:219和SEQ ID NO:220中,X₁是K,X₂是Q,X₃是Y,X₄是E,X₅是K,X₆是T,X₇是K,X₈是M,X₉是Q、A、S、T或L,X₁₀是G,X₁₁是K,X₁₂是Y,或者X₁₃是Y。

[0099] 在一些实施方案中,肽包含序列X₁CXGSXX₂CX₃X₄PCX₅XAXGX₆RXGX₇CX₈X₉X₁₀X₁₁CX₁₂CX₁₃P (SEQ ID NO:221), 其中每个X和X₁₋₁₃单独地是任何氨基酸或无氨基酸,并且在指示位置处的以下残基中的至少一个残基、在指示位置处的以下残基中的超过一个残基、或在指示位置处的以下残基中的所有残基包括在SEQ ID NO:221中:X₁是K,X₂是Q,X₃是Y,X₄是E,X₅是K,X₆是T,X₇是K,X₈是M,X₉是Q、A、S、T或L,X₁₀是G,X₁₁是K,X₁₂是Y,或者X₁₃是Y或GSX₁CXGSXX₂CX₃X₄PCX₅XAXGX₆RXGX₇CX₈X₉X₁₀X₁₁CX₁₂CX₁₃P (SEQ ID NO:222), 其中每个X和X₁₋₁₃单独地是任何氨基酸或无氨基酸,并且在指示位置处的以下残基中的至少一个残基、在指示位置处的以下残基中的超过一个残基、或在指示位置处的以下残基中的所有残基包括在SEQ ID NO:222中:X₁是K,X₂是Q,X₃是Y,X₄是E,X₅是K,X₆是T,X₇是K,X₈是M,X₉是Q、A、S、T或L,X₁₀是G,X₁₁是K,

X₁₂是Y,或者X₁₃是Y。SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222是变体共有肽序列,包括在SEQ ID NO:87和SEQ ID NO:21共有序列家族中,所述变体共有序列包括具有如本文所述的本公开的一些肽和肽片段的进一步改善的特性,具有或不具有N末端GS的截短的变体。此外,指示为SEQ ID NO:128(也显示为SEQ ID NO:205)和SEQ ID NO:149(也显示为SEQ ID NO:46; SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽被排除在包含SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222的肽之外(或不包括在其中)。在一些实施方案中,在指示位置处的以下残基中的至少两个残基、在指示位置处的以下残基中的至少三个残基、在指示位置处的以下残基中的至少四个残基、在指示位置处的以下残基中的至少五个残基、在指示位置处的以下残基中的至少六个残基、在指示位置处的以下残基中的至少七个残基、在指示位置处的以下残基中的至少八个残基、在指示位置处的以下残基中的至少九个残基、在指示位置处的以下残基中的至少十个残基、在指示位置处的以下残基中的至少十一个残基、或在指示位置处的以下残基中的至少十二个残基分别包括在SEQ ID NO:221或SEQ ID NO:222中:在SEQ ID NO:221和SEQ ID NO:222中,X₁是K,X₂是Q,X₃是Y,X₄是E,X₅是K,X₆是T,X₇是K,X₈是M,X₉是Q、A、S、T或L,X₁₀是G,X₁₁是K,X₁₂是Y,或者X₁₃是Y。

[0100] 在一些实施方案中,肽包含序列KCRGSRQCX¹X²PCKRAX⁸GX³RFGKCMX⁴X⁵KCX⁶CX⁷P (SEQ ID NO:223) 或GSKCRGSRQCX¹X²PCKRAX⁸GX³RFGKCMX⁴X⁵KCX⁶CX⁷P (SEQ ID NO:224),其中X¹选自L或Y,其中X²选自D或E,其中X³选自M或T,其中X⁴选自N、Q、A、S、T或L,其中X⁵选自S、G或R,其中X⁶选自H或Y,其中X⁷选自T或Y,并且X⁸是任何氨基酸或无。SEQ ID NO:223和SEQ ID NO:224是变体共有序列,并且包括具有本公开的一些肽和肽片段的进一步改善的特性的、具有或不具有N末端GS的变体。

[0101] 在一些实施方案中,肽包含序列XVXIXVKCRGSRQCX¹X²PCKRAX⁸GX³RFGKCMX⁴X⁵KCX⁶CX⁷P (SEQ ID NO:225) 或GSXVXIXVKCRGSRQCX¹X²PCKRAX⁸GX³RFGKCMX⁴X⁵KCX⁶CX⁷P (SEQ ID NO:226),其中X¹选自L或Y,其中X²选自D或E,其中X³选自M或T,其中X⁴选自N、Q、A、S、T或L,其中X⁵选自S、G或R,其中X⁶选自H或Y,其中X⁷选自T或Y,并且X⁸是任何氨基酸或无。SEQ ID NO:225和SEQ ID NO:226是变体共有序列,并且包括具有本公开的一些肽和肽片段的进一步改善的特性的、具有或不具有N末端GS的变体。

[0102] 在一些实施方案中,肽包含具有或不具有N末端GS的序列KCRGSRDCLDPCKKAGMRFGKCINSKCHCTP (SEQ ID NO:109)。此外,指示为SEQ ID NO:150和SEQ ID NO:199 (SEQ ID NO:150的非GS版本)的肽被排除在包含SEQ ID NO:109的肽之外(或不包括在其中)。

[0103] 在一些实施方案中,肽是包含序列GRCINSRC (SEQ ID NO:227)的片段。

[0104] 在一些实施方案中,肽是包含序列GRCIXXRC (SEQ ID NO:228)的片段,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无。

[0105] 在一些实施方案中,肽是包含序列GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229)的片段,其中X¹=N、Q、A、S、T或L并且X²=S、G或R。

[0106] 在一些实施方案中,肽是包含序列PCR (SEQ ID NO:230)的片段。

[0107] 在一些实施方案中,肽是包含序列CLDPCRR (SEQ ID NO:231)的片段。

[0108] 在一些实施方案中,肽是包含序列CLDPCRR (SEQ ID NO:232)的片段。

[0109] 在一些实施方案中,肽是包含序列RCRGSRDC (SEQ ID NO:257)的片段。

[0110] 在一些实施方案中,肽是包含序列PCRRAG (SEQ ID NO:258)的片段。

[0111] 在一些实施方案中,肽是包含序列RFGRCI (SEQ ID NO:259)的片段。

[0112] 本文所公开的肽片段可用作免疫原性表位(即,用于产生将结合此类片段的抗体、抗体片段或CDR)或以其他方式用于鉴定本公开的肽,或从表达文库等中筛选本公开的肽的其他相关变体,或使用本领域中已知的多种方法(包括蛋白质印迹、亲和色谱法、FACS等)纯化本公开的肽。此外,此类片段的多核苷酸序列可用作分子探针或在PCR筛选中用于分离和鉴定编码本发明的肽的多核苷酸,或从表达文库等中筛选本公开的肽的其他相关变体。例如,SEQ ID NO:227-SEQ ID NO:232和SEQ ID NO:257-SEQ ID NO:259的片段可用于此目的。

[0113] 可以在本公开的肽之间包括或排除N末端GS序列。

[0114] 此外,本文中鉴定的某些小片段是保守的或功能性的肽序列或肽结构域,其可用于产生本公开的其他变体肽,所述变体肽在免疫原性、稳定性、可制造性、软骨结合等方面具有增强的功能性,如本文所公开。例如,以下片段可用于增强包含SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:45-SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:128-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:149、或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽的功能性,并且在其序列内包含以下肽片段中的一个或多个:KCIN (SEQ ID NO:91);PCKR (SEQ ID NO:93);KQC (SEQ ID NO:95);RQC (SEQ ID NO:101);PCKK (SEQ ID NO:102);GKCMNGKC (SEQ ID NO:104);GRCMNGRC (SEQ ID NO:105);GRCIXXRC (SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R,其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无,所述肽具有相对于如位于SEQ ID NO:128或SEQ ID NO:149、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:127、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262内的那些片段(或参照那些片段)而言位于所述肽中的相应位置处的前述肽片段中的一个或多个,具有或不具有N末端GS(例如,使用序列比对或其他方法)。此外,本文中鉴定的某些片段是保守的或功能性的肽序列或肽结构域,其可并入本公开的变体肽中以增强软骨归巢、稳定性、可制造性、软骨结合等方面的功能性,如本文所公开。例如,以下片段可用于增强包含SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29-SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:52-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256、和SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:226的肽的功能性,并且在其序列内包含以下肽片段中的一个或多个:RCIN (SEQ ID NO:97);PCRR (SEQ ID NO:99);GRCINSRC (SEQ ID NO:227);GRCIXXRC (SEQ ID NO:228),其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无;GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229),其中X¹=N、Q、A、S、T或L,并且X²=S、G或R;PCR (SEQ ID NO:230);CLDPCRR (SEQ ID NO:231);CLDPCRR (SEQ ID NO:232);RCRGSRDC (SEQ ID NO:257);PCRRAG (SEQ ID NO:258);和RFGRCI (SEQ ID NO:259),所述肽具有位于SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89或SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:199、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:219或SEQ ID NO:221、或SEQ ID NO:224或SEQ ID NO:226中的任一个的肽内的这些相应位置处的前述片段序列中的一个或多个,具有或不具有N末端GS(例如,使用序列比对或其他方法)。

[0115] 在一些实施方案中,本公开的肽在其序列内包含以下肽片段中的一个或多个:

GKCINKKCKC (SEQ ID NO:90); KCIN (SEQ ID NO:91); KKCK (SEQ ID NO:92); PCKR (SEQ ID NO:93); KRCSRR (SEQ ID NO:94); KQC (SEQ ID NO:95); GRCINRRRCRC (SEQ ID NO:96); RCIN (SEQ ID NO:97); RRCR (SEQ ID NO:98); PCRR (SEQ ID NO:99); RRCSRR (SEQ ID NO:100); RQC (SEQ ID NO:101); PCKK (SEQ ID NO:102); KKCSKK (SEQ ID NO:103); GKCMNGKC (SEQ ID NO:104); GRCMNGRC (SEQ ID NO:105); GRCINSRC (SEQ ID NO:227); GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R (SEQ ID NO:229); PCR (SEQ ID NO:230); CLDPCRRA (SEQ ID NO:231); CLDPCRR (SEQ ID NO:232); RCRGSRDC (SEQ ID NO:257); PCRRAG (SEQ ID NO:258); 和RFGRCI (SEQ ID NO:259)。在另一个实施方案中, 本公开的肽包含与 SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:256中的任一个80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的肽, 并且在其序列内还包含以下肽片段中的一个或多个: GKCINKKCKC (SEQ ID NO:90); KCIN (SEQ ID NO:91); KKCK (SEQ ID NO:92); PCKR (SEQ ID NO:93); KRCSRR (SEQ ID NO:94); KQC (SEQ ID NO:95); GRCINRRRCRC (SEQ ID NO:96); RCIN (SEQ ID NO:97); RRCR (SEQ ID NO:98); PCRR (SEQ ID NO:99); RRCSRR (SEQ ID NO:100); RQC (SEQ ID NO:101); PCKK (SEQ ID NO:102); KKCSKK (SEQ ID NO:103); GKCMNGKC (SEQ ID NO:104); GRCMNGRC (SEQ ID NO:105); GRCINSRC (SEQ ID NO:227); GRCIXXRC (SEQ ID NO:228), 其中每个X可以独立地是任何氨基酸或氨基酸类似物或无; GRCIX¹X²RC (SEQ ID NO:229), 其中X¹=N、Q、A、S、T或L, 并且X²=S、G或R (SEQ ID NO:229); PCR (SEQ ID NO:230); CLDPCRRA (SEQ ID NO:231); CLDPCRR (SEQ ID NO:232); RCRGSRDC (SEQ ID NO:257); PCRRAG (SEQ ID NO:258); 和RFGRCI (SEQ ID NO:259)。在另一个实施方案中, 在其序列内具有前述肽片段中的一个或多个的肽具有相对于如位于SEQ ID NO:128或SEQ ID NO:149内的那些片段(或参照那些片段)而言位于所述肽的相应位置中的片段序列(例如, 使用序列比对或其他方法)(SEQ ID NO:149还公开为SEQ ID NO:46; SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)。在另一个实施方案中, 本文所公开的片段序列位于SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226中的任一个的肽内的这些相应位置处。在另一个实施方案中, 本文所公开的片段序列位于SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:225中的任一个的肽内的这些相应位置处。在另一个实施方案中, 本文所公开的片段序列位于SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:89或SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:219或SEQ ID NO:221、或SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262中的任一个的肽内的这些相应位置处(例如, 使用序列比对或其他方法)。

[0116] 在一些实施方案中, 本文所公开的具有N末端GS序列的任何肽可还具有选自由以下组成的组的突变或相应取代中的一个或多个: N7S、D18E、M25T、N32Q、N32A、N32S、N32T、N32L、S33G、S33R、L17Y、H36Y和T38Y。

[0117] 在一些实施方案中, 本文所公开的不具有N末端GS序列的任何肽可还具有选自由以下组成的组的突变或相应取代中的一个或多个: N5S、D16E、M23T、N30Q、N30A、N30S、N30T、N30L、S31G、S31R、L15Y、H34Y和T36Y。

[0118] 在一些实施方案中,本文所公开的不具有N末端GS序列的任何肽可还具有选自由以下组成的组的突变或相应取代中的一个或多个:D10E、M17T、N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G、S25R、L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

[0119] 在一些实施方案中,本文所公开的具有N末端GS序列的任何肽可还具有选自由以下组成的组的突变或相应取代中的一个或多个:D12E、M19T、N26Q、N26A、N26S、N26T、N26L、S27G、S27R、L11Y、H30Y、T32Y、R3K、R15K、R16K、R23K和R28K。

[0120] 表1列出了一些根据本公开的示例性肽。

[0121] 表1-示例性氨基酸序列

SEQ ID NO:	氨基酸序列
SEQ ID NO: 27	GSKCRGSRDCLDPCKKAGMRFGKCINSKCHCTP
SEQ ID NO: 28	GSRCRGSRDCLDPCCRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 29	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCINGRCHCTP
SEQ ID NO: 30	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCINRRCHCTP
SEQ ID NO: 31	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCINSRCHCTP
[0122] SEQ ID NO: 32	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 33	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
SEQ ID NO: 34	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 35	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
SEQ ID NO: 36	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCIASRCHCYP
SEQ ID NO: 37	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCISSRCHCYP
SEQ ID NO: 38	GSRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCITSRCHCYP

[0123]

SEQ ID NO:	氨基酸序列
SEQ ID NO: 39	GSKCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 40	GSRCRGSRDCLDPCCKRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 41	GSRCRGSRDCLDPCRKAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 42	GSRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGKCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 43	GSRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSKCHCTP
SEQ ID NO: 44	GSRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCYP
SEQ ID NO: 45	GSSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 46	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 47	GSVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 48	GSPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 49	GSINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 50	GSNVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 51	GSVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 52	GSGVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINGRCHCTP
SEQ ID NO: 53	GSGVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 54	GSGVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINRRCHCTP
SEQ ID NO: 55	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 56	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 57	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
SEQ ID NO: 58	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 59	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
SEQ ID NO: 60	GSGVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
SEQ ID NO: 61	GSGVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 62	GSGVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
SEQ ID NO: 63	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIASRCHCYP
SEQ ID NO: 64	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCISSRCHCYP
SEQ ID NO: 65	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCITSRCHCYP
SEQ ID NO: 66	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCYP
SEQ ID NO: 109	KCRGSRDCLDPCCKKAGMRFGKCINSKCHCTP
SEQ ID NO: 110	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 111	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINGRCHCTP
SEQ ID NO: 112	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINRRCHCTP
SEQ ID NO: 113	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 114	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 115	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
SEQ ID NO: 116	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 117	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
SEQ ID NO: 118	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIASRCHCYP
SEQ ID NO: 119	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCISSRCHCYP
SEQ ID NO: 120	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCITSRCHCYP
SEQ ID NO: 121	KCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 122	RCRGSRDCLDPCCKRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 123	RCRGSRDCLDPCRKAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 124	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGKCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 125	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSKCHCTP
SEQ ID NO: 126	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCYP
SEQ ID NO: 127	SGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP

[0124]

SEQ ID NO:	氨基酸序列
SEQ ID NO: 128	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 129	VPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 130	PINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 131	INVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 132	NVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 133	VRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 134	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINGRCHCTP
SEQ ID NO: 135	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 136	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINRRCHCTP
SEQ ID NO: 137	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCTP
SEQ ID NO: 138	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 139	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
SEQ ID NO: 140	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 141	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
SEQ ID NO: 142	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
SEQ ID NO: 143	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 144	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
SEQ ID NO: 145	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIASRCHCYP
SEQ ID NO: 146	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCISSRCHCYP
SEQ ID NO: 147	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCITSRCHCYP
SEQ ID NO: 148	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCYP
SEQ ID NO: 233	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCTP
SEQ ID NO: 234	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
SEQ ID NO: 235	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
SEQ ID NO: 236	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 237	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIASRCHCTP
SEQ ID NO: 238	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCISSRCHCTP
SEQ ID NO: 239	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCITSRCHCTP
SEQ ID NO: 240	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCILSRCHCTP
SEQ ID NO: 241	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCTP
SEQ ID NO: 242	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
SEQ ID NO: 243	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
SEQ ID NO: 244	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 245	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIASRCHCTP
SEQ ID NO: 246	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCISSRCHCTP
SEQ ID NO: 247	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCITSRCHCTP
SEQ ID NO: 248	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCILSRCHCTP
SEQ ID NO: 249	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCTP
SEQ ID NO: 250	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
SEQ ID NO: 251	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
SEQ ID NO: 252	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIQSRCHCTP
SEQ ID NO: 253	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIASRCHCTP
SEQ ID NO: 254	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCISSRCHCTP
SEQ ID NO: 255	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCITSRCHCTP
SEQ ID NO: 256	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCILSRCHCTP
SEQ ID NO: 260	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHC
SEQ ID NO: 261	GSRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHC

[0125]	SEQ ID NO:	氨基酸序列
	SEQ ID NO: 262	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCT
	SEQ ID NO: 263	GSRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCT

[0126] 在一些实施方案中,本公开的肽与SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260、SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:241-SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:261和SEQ ID NO:263、或SEQ ID NO:209-SEQ ID NO:215中的任一个具有至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少85.5%、至少86%、至少86.5%、至少87%、至少87.5%、至少88%、至少88.5%、至少89%、至少89.5%、至少90%、至少90.5%、至少91%、至少91.5%、至少92%、至少92.5%、至少93%、至少93.5%、至少94%、至少94.5%、至少95%、至少95.5%、至少96%、至少96.5%、至少97%、至少97.5%、至少98%、至少98.5%、至少99%、至少99.5%、或100%序列同一性。在一些实施方案中,本公开的肽与选自SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260、SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:241-SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:261和SEQ ID NO:263、和SEQ ID NO:209-SEQ ID NO:215组成的组的序列具有至少50%、至少51%、至少52%、至少53%、至少54%、至少55%、至少56%、至少57%、至少58%、至少59%、至少60%、至少61%、至少62%、至少63%、至少64%、至少65%、至少66%、至少67%、至少68%、至少69%、至少70%、至少71%、至少72%、至少73%、至少74%、至少75%、至少76%、至少77%、至少78%、至少79%、至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少85%、至少85.5%、至少86%、至少86.5%、至少87%、至少87.5%、至少88%、至少88.5%、至少89%、至少89.5%、至少90%、至少90.5%、至少91%、至少91.5%、至少92%、至少92.5%、至少93%、至少93.5%、至少94%、至少94.5%、至少95%、至少95.5%、至少96%、至少96.5%、至少97%、至少97.5%、至少98%、至少98.5%、至少99%、至少99.5%、或100%序列同一性。在一些实施方案中,本公开的肽由选自以下组成的组的序列组成:SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:87、SEQ ID NO:88、

SEQ ID NO:107、SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:260、SEQ ID NO:262、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:241-SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:261、和SEQ ID NO:263、和SEQ ID NO:209-SEQ ID NO:215。

[0127] 在一些实施方案中,本公开的任何肽还包含连接序列。连接序列可处于N末端或C末端。在一些实施方案中,所述连接序列包含一个或多个氨基酸残基,并且紧邻肽的N末端或C末端定位。连接序列可以是至少1个氨基酸残基、至少2个氨基酸残基、至少1个氨基酸残基、至少2个氨基酸残基、至少3个氨基酸残基、至少4个氨基酸残基、至少5个氨基酸残基、至少6个氨基酸残基、至少7个氨基酸残基、至少8个氨基酸残基、至少9个氨基酸残基、至少10个氨基酸残基、至少15个氨基酸残基、至少20个氨基酸残基、至少25个氨基酸残基、至少30个氨基酸残基、至少35个氨基酸残基、至少40个氨基酸残基、至少45个氨基酸残基、至少50个氨基酸残基、至少55个氨基酸残基、至少60个氨基酸残基、至少65个氨基酸残基、至少70个氨基酸残基、至少75个氨基酸残基、至少80个氨基酸残基、至少85个氨基酸残基、至少90个氨基酸残基、至少95个氨基酸残基,多达并且包括100个氨基酸残基、1至5个氨基酸残基、5至10个氨基酸残基、10至15个氨基酸残基、15至20个氨基酸残基、20至25个氨基酸残基、25至30个氨基酸残基、30至35个氨基酸残基、35至40个氨基酸残基、40至45个氨基酸残基、45至50个氨基酸残基、50至55个氨基酸残基、55至60个氨基酸残基、60至65个氨基酸残基、65至70个氨基酸残基、70至75个氨基酸残基、75至80个氨基酸残基、80至85个氨基酸残基、85至90个氨基酸残基、90至95个氨基酸残基、95至100个氨基酸残基、1至100个氨基酸残基、5至100个氨基酸残基、20至80个氨基酸残基、或1至10个氨基酸残基。

[0128] 连接序列可紧邻本文所公开的肽的N末端、C末端或N末端和C末端。位于紧邻肽的N末端的连接序列中的残基称为N-1(紧邻肽的N末端的残基)、N-2(紧邻N-1残基的N末端的残基)、N-3(紧邻N-2残基的N末端的残基)、N-4(紧邻N-3残基的N末端的残基)、N-5(紧邻N-4残基的N末端的残基)、N-6(紧邻N-5残基的N末端的残基),依此类推。换句话说,如果连接序列位于肽的N末端,则所述连接序列的最后一个残基(从左至右,或从N末端至C末端读)是N-1残基,所述连接序列的倒数第二个残基是N-2残基,所述连接序列的倒数第三个残基是N-3,所述连接序列的倒数第四个残基是N-4残基,所述连接序列的倒数第五个残基是N-5残基,所述连接序列的倒数第六个残基是N-6残基,依此类推。

[0129] 位于紧邻肽的C末端的连接序列中的残基称为C+1(紧邻肽的C末端的残基)、C+2(紧邻C+1残基的C末端的残基)、C+3(紧邻C+2残基的C末端的残基)、C+4(紧邻C+3残基的C末端的残基)、C+5(紧邻C+4残基的C末端的残基)、C+6(紧邻C+5残基的C末端的残基),依此类推。换句话说,如果连接序列位于肽的C末端,则所述连接序列的第一个残基(从左至右,或从N末端至C末端读)是C+1残基,所述连接序列的第二个残基是C+2残基,所述连接序列的第三个残基是C+3,所述连接序列的第四个残基是C+4残基,所述连接序列的第五个残基是C+5残基,所述连接序列的第六个残基是C+6残基,依此类推。

[0130] 在一些实施方案中,所述肽与以下任一项具有至少70%、至少75%、至少80%、至

少85%、至少90%、至少95%、至少97%、至少99%或100%的序列同一性:a) SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260或SEQ ID NO:262,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;b) SEQ ID NO:129,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;c) SEQ ID NO:130,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;d) SEQ ID NO:131,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;e) SEQ ID NO:132,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、V、L、M、F、W、P、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;f) SEQ ID NO:133,其中所述肽在N末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的C末端处的最后一个残基选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、T、C、Y、Q、D、E、K、R和H;g) SEQ ID NO:260,其中所述肽在C末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的N末端处的第一个残基选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、P、S、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H;或h) SEQ ID NO:262,其中所述肽在C末端处还包含连接序列,并且其中所述连接序列的N末端处的第一个残基选自由以下组成的组:G、A、V、L、I、M、F、W、S、T、C、Y、N、Q、D、E、K、R和H。

[0131] 在SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个或其片段中,任何一个或多个K残基可被R残基或A残基替换,任何一个或多个R残基可被K残基或A残基替换,任何一个或多个A残基可被K残基或R残基替换,所有K残基可被R残基或A残基替换,除了一个以外的所有K残基可被R或A残基替换,除了两个以外的所有K残基可被R残基或A残基替换,或以它们的任何组合。在SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263或其任何片段的任一个中,任何一个或多个M残基可被I、L、或V残基中的任一个替换,任何一个或多个L残基可被V、I、或M残基中的任一个替换,任何一个或多个I残基可被M、L、或V残基中的任一个替换,或者任何一个或多个V残基可被I、L、或M残基中的任一个替换。在任何实施方案中,单独或组合的氨基酸中至少一个可以如下在肽或肽片段中互换:K/R、M/I/L/V、G/A、S/T、Q/N和D/E,其中每个字母各自单独地是任何氨基酸或氨基酸类似物。在一些情况下,所述肽可仅含有一个赖氨酸残基,或不含赖氨酸残基。在SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个或其片段中,任何氨基酸可被瓜氨酸替换。在SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个或其任何片段中,X

可以独立地是任何数量的任何氨基酸或无氨基酸。在一些情况下,肽可包括前两个N末端氨基酸GS,正如SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:241-SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:261和SEQ ID NO:263的肽,或者此类N末端氨基酸(GS)可被任何其他的一个或两个氨基酸取代。在其他情况下,肽不包括前两个N末端氨基酸GS,正如SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219、SEQ ID NO:221、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:260和SEQ ID NO:262的肽。在一些情况下,所述肽的N末端被封闭,如通过乙酰基基团封闭;在其他情况下,所述肽的C末端被封闭,如通过酰胺基基团封闭。

[0132] 在一些情况下,所述肽是SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个或其功能片段。在其他实施方案中,本公开的肽还包含与SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个具有99%、95%、90%、85%或80%同源性的肽。在另外的实施方案中,所述肽片段包含SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个的连续片段,所述连续片段为至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个、至少31个、至少32个、至少33个、至少34个、至少35个、至少36个、至少37个、至少38个、至少39个、至少40个、至少41个、至少42个、至少43个、至少44个、至少45个、至少46个残基长,其中所述肽片段选自所述肽的任何部分。在一些实施方案中,此类肽片段接触软骨并且展现出本文所述的肽和肽-活性剂缀合物的特性。

[0133] 本公开的肽可还包含负电氨基酸残基。在一些情况下,所述肽具有2个或更少个负电氨基酸残基。在其他情况下,所述肽具有4个或更少个负电氨基酸残基、3个或更少个负电氨基酸残基、或1个或更少个负电氨基酸残基。所述负电氨基酸残基可选自任何带负电的氨基酸残基。所述负电氨基酸残基可选自E或D,或E和D两者的组合。

[0134] 本公开的肽可还包含碱性氨基酸残基。在一些实施方案中,将碱性残基添加至所述肽序列以增加在生理pH下的电荷。所述添加的碱性残基可以是任何碱性氨基酸。所述添加的碱性残基可选自K或R,或K或R的组合。

[0135] 在一些实施方案中,所述肽具有包含酸性区和碱性区的电荷分布。酸性区可以是小块。小块是从肽的三维结构延伸出来的肽的一部分。碱性区可以是小片。片是肽的一部分,其不指定肽的三维结构的任何特定拓扑特征。在另外的实施方案中,胱氨酸密集肽可以是6个或更多个碱性残基和2个或更少个酸性残基。

[0136] 本公开的肽可还包含带正电的氨基酸残基。在一些情况下,所述肽具有至少2个带正电的残基。在其他情况下,所述肽具有至少3个带正电的残基、至少4个带正电的残基、至

少5个带正电的残基、至少6个带正电的残基、至少7个带正电的残基、至少8个带正电的残基、或至少9个带正电的残基。所述带正电的残基可选自任何带正电的氨基酸残基。所述带正电的残基可选自K或R,或K和R的组合。

[0137] 此外,本文的肽可包含任何上述序列的4-19个氨基酸残基片段,所述片段含有至少2个半胱氨酸残基,和至少2个或3个带正电的氨基酸残基(例如,精氨酸、赖氨酸或组氨酸,或精氨酸、赖氨酸或组氨酸的任何组合)。在其他实施方案中,本文的肽是任何上述序列的20-70个氨基酸残基片段,所述片段含有至少2个半胱氨酸残基、不超过2个碱性残基,和至少2个或3个带正电的氨基酸残基(例如,精氨酸、赖氨酸或组氨酸,或精氨酸、赖氨酸或组氨酸的任何组合)。在一些实施方案中,此类肽片段接触软骨并且展现出本文所述的肽和肽-活性剂缀合物的特性。

[0138] 此外,指示为SEQ ID NO:128(也显示为SEQ ID NO:205)和SEQ ID NO:149(也显示为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽被排除在包含含有以下的任一种肽的肽之外(或不包括在其中):SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263。指示为SEQ ID NO:128(也显示为SEQ ID NO:205)和SEQ ID NO:149(也显示为SEQ ID NO:46)的肽特别地排除在包含含有以下的任一种肽的肽之外(或不包括在其中):SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:260、SEQ ID NO:262。

[0139] 在一些实施方案中,所述肽含有一个或多个二硫键,并且在中性pH下具有正净电荷。在生理pH下,肽可具有例如-5、-4、-3、-2、-1、0、+1、+2、+3、+4、或+5的净电荷。当所述净电荷是零时,所述肽可以是不带电的或两性离子的。在一些情况下,所述肽在生理pH下可具有正电荷。在一些情况下,所述肽在生理pH下可具有 $\geq +2$,在生理pH下 $\geq +3.5$,在生理pH下 $\geq +4.5$ 的电荷。在一些实施方案中,所述肽含有一个或多个二硫键并且在中性pH下具有正净电荷,其中所述净电荷可以是+0.5或小于+0.5、+1或小于+1、+1.5或小于+1.5、+2或小于+2、+2.5或小于+2.5、+3或小于+3、+3.5或小于+3.5、+4或小于+4、+4.5或小于+4.5、+5或小于+5、+5.5或小于+5.5、+6或小于+6、+6.5或小于+6.5、+7或小于+7、+7.5或小于+7.5、+8或小于+8、+8.5或小于+8.5、+9或小于+9.5、+10或小于+10。在一些实施方案中,所述肽在生理pH下具有负净电荷,其中所述净电荷可以是-0.5或小于-0.5、-1或小于-1、-1.5或小于-1.5、-2或小于-2、-2.5或小于-2.5、-3或小于-3、-3.5或小于-3.5、-4或小于-4、-4.5或小于-4.5、-5或小于-5、-5.5或小于-5.5、-6或小于-6、-6.5或小于-6.5、-7或小于-7、-7.5或小于-7.5、-8或小于-8、-8.5或小于-8.5、-9或小于-9.5、-10或小于-10。在一些情况下,肽内的一个或多个突变或相应取代的工程化产生在生理pH下具有改变的等电点、电荷、表面电荷或流变学的肽。对衍生自蝎子或蜘蛛的肽的突变或相应取代的这种工程化可以例如通过将净电荷减少1、2、3、4或5,或通过将净电荷增加1、2、3、4或5来改变复合物的净电荷。在此类情况下,工程化的突变或相应取代可以促进肽与软骨接触的能力。用于改善肽的流变学和效力的合适的氨基酸修饰可包括保守或非保守突变或相应取代。与衍生肽的毒液或毒素的序列相比,肽可包含至多1个氨基酸突变或相应取代、至多2个氨基酸突变或相应取代、至多3个氨基酸突变或相应取代、至多4个氨基酸突变或相应取代、至多5个氨基酸突变或相应取代、至多6个氨基酸突变或相应取代、至多7个氨基酸突变或相应取代、至多8个氨基酸突

变或相应取代、至多9个氨基酸突变或相应取代、至多10个氨基酸突变或相应取代、或其他合适的数目。在其他情况下,与衍生肽的毒液或毒素的序列相比,肽或其功能片段包含至少1个氨基酸突变或相应取代、至少2个氨基酸突变或相应取代、至少3个氨基酸突变或相应取代、至少4个氨基酸突变或相应取代、至少5个氨基酸突变或相应取代、至少6个氨基酸突变或相应取代、至少7个氨基酸突变或相应取代、至少8个氨基酸突变或相应取代、至少9个氨基酸突变或相应取代、至少10个氨基酸突变或相应取代、或其他合适的数目。在一些实施方案中,可以在肽内工程化突变或相应取代以提供在生理pH下具有所需电荷或稳定性的肽。

[0140] 可以使肽突变以增加功能或去除功能。例如,可以使本公开的肽和肽缀合物突变以保留、去除或增加结合至离子通道的能力,或促进激动或拮抗离子通道,如与所述肽或肽缀合物可能发生的钾通道结合(例如,钾通道hERG)。在一些情况下,从用于递送活性剂的肽中去除钾通道结合可能是有利的。突变或相应取代可包括一个或多个N至S、D至E、M至T、N至Q、N至A、N至S、N至T、N至L、S至G和S至R氨基酸取代,或一个或多个L至Y、H至Y和T至Y氨基酸取代,或它们的任何组合,这取决于变体是否被设计为保留功能或去除与离子通道结合的功能。在一些实施方案中,使本公开的肽和肽-药物缀合物突变以使离子通道结合最小化,以便最小化副作用或增强靶组织或全身的安全性。

[0141] 在一些实施方案中,电荷可在软骨归巢中起作用。本公开的肽在溶液和体内的相互作用可受肽的等电点(pI)和/或溶液的pH或其所处的局部环境的影响。溶液中肽的电荷可以影响蛋白的溶解度以及如生物分布、生物利用度和总体药代动力学等参数。另外,带正电的分子可以与带负电的分子相互作用。带正电的分子,如本文所公开的肽,可以与带负电的分子相互作用并结合,所述带负电的分子如软骨中的带负电的胞外基质分子,包括透明质酸和聚集蛋白聚糖。带正电的残基还可以与其他蛋白和分子的特定区,如受体的带负电的残基或细胞表面上的离子通道孔的电负性区相互作用。因此,肽的pI可影响本公开的肽是否可以有效地归巢至软骨。鉴定pI和软骨归巢之间的相关性可以是鉴定本公开的前导肽候选物的重要策略。可以使用许多不同的方法计算肽的pI,所述方法包括Expasy pI计算器和Sillero方法。Expasy pI可以通过计算如Bjellqvist等人所述的氨基酸的pKa值来确定,其通过在固定的pH梯度凝胶环境(9.2M和9.8M尿素在15°C或25°C下)中检查pH 4.5至pH 7.3之间的多肽迁移来定义(Bjellqvist等人Electrophoresis.14(10):1023-31(1993))。计算pI的Sillero方法可涉及多项式方程的解答和每个氨基酸的个体pKa。此方法不使用变性条件(尿素)(Sillero等人179(2):319-35(1989))。使用这些pI计算方法并在施用至受试者后定量肽信号的软骨与血比率可以用于鉴定电荷和软骨归巢趋势或相关性的策略。在一些实施方案中,pI高于生物pH(约pH 7.4)的肽可以展现出有效的软骨归巢。在一些实施方案中,具有至少8、至少9、至少10或至少11的pI的肽可有效地归巢至软骨。在其他实施方案中,具有11-12的pI的肽可最有效地归巢至软骨。在某些实施方案中,肽可具有约9的pI。在其他实施方案中,肽可具有8-10的pI。在一些实施方案中,更碱性的肽可更有效地归巢至软骨。在其他实施方案中,单独的高pI可能不足以引起肽的软骨归巢。

[0142] 在一些实施方案中,本公开的肽的三级结构和静电可影响软骨归巢。结构分析或电荷分布分析可以是预测生物功能(如软骨归巢)中重要残基的策略。例如,本公开的归巢至软骨的若干种肽可分组为本文定义为“希金斯”的结构类别,并且可共享C1-C4、C2-C5、和C3-C6之间的二硫键的特性。通过三个二硫键(C1-C4、C2-C5、和C3-C6)连接的肽的折叠拓扑

结构可基于二硫化物的三维排列分解成结构家族。一些胱氨酸密集肽具有通过由C1-C4和C2-C5二硫键形成的大环的C3-C6二硫键,希金斯具有通过由C1-C4和C3-C6二硫键形成的大环的C2-C5二硫键,并且其他结构家族具有通过由C2-C5和C3-C6二硫键形成的大环的C1-C4二硫键。在这些半胱氨酸残基处具有保留的二硫键的“希金斯”类别肽的变体、一级序列同一性和/或结构同源性可以是鉴定或预测可归巢至软骨的其他潜在肽候选物的方法。另外,尽管具有与“希金斯”类别肽不同的三级结构,钙蛋白(calcin)家族肽的成员和相关成员也可归巢至软骨。钙蛋白肽在结构上是胱氨酸密集肽的一个子集,具有胱氨酸密集二硫化物连接和拓扑结构,但是基于结合和激活雷诺丁受体(RyR)的功能进一步分类。这些受体是钙通道,其作用是调节肌肉中钙的流入和流出(Schwartz等人Br J Pharmacol 157(3):392-403.(2009))。具有保留的关键残基的钙蛋白家族肽的变体可以是预测可归巢至软骨的有希望的候选物的一种方式。在一些实施方案中,本公开的肽的结构分析可通过评价肽在具有各种蛋白酶或还原剂的缓冲液中对降解的抗性来确定。对肽表面上电荷密度分布的结构分析也可以是用于预测可归巢至软骨的有希望的候选物的策略。具有大片的正表面电荷的肽(当pH在7.5时)可归巢至软骨。

[0143] 相关结构同源物的NMR溶液结构、X射线晶体学或晶体结构可用于为可改善折叠、稳定性和可制造性同时保持肽归巢至软骨的能力的突变策略提供信息。它们可用于预测一组结构上同源支架的3D药效团,以及预测相关蛋白的可能的移植区以产生具有改善的特性的嵌合体。例如,该策略可用于鉴定关键氨基酸位置和环,这些关键氨基酸位置和环可用于设计具有改善特性的药物或校正使肽的折叠和可制造性复杂化的有害突变。可保留这些关键氨基酸位置和环,同时可突变肽序列中的其他残基以改善、改变、去除或以其他方式修饰肽的功能、归巢和活性。

[0144] 另外,两个或更多个肽的一级序列和三级序列的比较可用于揭示序列和3D折叠模式,可利用所述序列和3D折叠模式以改善肽并解析这些肽的生物活性。例如,比较归巢至软骨的两种不同的肽支架可导致鉴定可指导工程化策略的保守的药效团,如设计具有改善的折叠特性的变体。例如,重要的药效团可包含芳香族残基或碱性残基,它们对结合可能是重要的。

[0145] 改善的肽还可基于免疫原性信息(如由TEPITOPE和TEPITOPEpan预测的免疫原性信息)工程化。TEPITOPE是一种计算方法,它使用位置特异性评分矩阵来提供肽是否与51个不同HLA-DR等位基因结合的预测规则,并且TEPITOPEpan是使用TEPITOPE从具有已知结合特异性的HLA-DR分子基于口袋相似性推断出具有未知结合特异性的HLA-DR分子的方法。例如,TEPITOPE和TEPITOPEpan可用于确定归巢至软骨的肽的免疫原性。免疫原性信息也可使用程序NetMHCII版本2.3预测,该程序可确定序列可能经由抗原呈递细胞(APC)的主要组织相容性复合物(MHC)呈递系统呈现为免疫原性肽的可能性。(Nielson,M等人BMC Bioinformatics,8:238(2007);Nielsen,M.等人BMC Bioinformatics,10:296(2009))。该程序可通过预测肽与MHC等位基因的结合来产生免疫原性评分。可分别统计每个主要MHC等位基因组(DR、DQ和DP)中的强结合等位基因和弱结合等位基因。还可统计序列内特定长度的具有免疫原性的肽(例如,可以是九个残基长的‘核心’肽)的数量。对具有高免疫原性的肽或“核心”肽与具有低免疫原性的肽或“核心”肽的比较可指导设计具有降低的免疫原性的变体的工程化策略。更强的结合肽更可能在携带给定MHC等位基因的患者中产生免疫应

答。从肽序列突变更强的结合氨基酸或肽可降低整个肽的免疫原性。除了肽是否与患者的MHC等位基因结合之外,免疫原性的另一个方面可以是患者的免疫细胞,如专职抗原呈递细胞如巨噬细胞、B细胞或树突细胞,是否可以加工肽。树突细胞可吸收蛋白或肽,并且然后可加工肽,如通过切割以形成九个残基长的肽,所述肽然后可结合至MHC并且可在树突细胞的表面上呈递给免疫系统的各种T细胞(包括辅助T细胞和细胞毒性T细胞),并且因此可刺激免疫应答。该加工可涉及通过酶的肽键切割和二硫键还原,并且因此对酶促切割和/或还原具有抗性的肽或蛋白可抵抗加工以及随后MHC呈递给免疫系统。因此,具有对酶促切割和/或还原具有抗性的肽或蛋白可降低其免疫原性潜力。

[0146] 此外,多序列比对也可用于为使用之前鉴定的序列的突变策略提供信息,并且因此提供进行改变的指导,所述改变将消除肽序列的不稳定残基和免疫原性区。可评估肽的潜在生化不稳定性残基和潜在免疫原性区。然后,可从多序列比对中鉴定可允许肽中某个位置具有更高肽稳定性的残基。例如,可从多重序列比对中鉴定特定残基,所述特定残基为肽在先前鉴定为具有脱酰胺、切割、降解、氧化、水解、异构化、二硫化物交换、外消旋化、 β 消除或聚集的显著速率的可能风险的位置提供更高的稳定性。然后该信息可用于产生具有更高稳定性或降低的免疫原性的肽。

[0147] 除了利用共晶x射线结构、NMR溶液结构和诱变研究外,肽序列的多重比对也可用于鉴定特异性氨基酸或高保守性区,所述特异性氨基酸或高保守性区指示与靶标或受体的重要相互作用(例如,与钾通道蛋白结合)或对折叠和结构或其他特性很重要。一旦鉴定出保守的氨基酸或区,就可确定维持肽的重要特性(如维持结构、降低免疫原性、减少与离子通道蛋白的结合、增加稳定性、或它们的任何组合)的氨基酸替换。

[0148] 多重序列比对还可鉴定添加酪氨酸或色氨酸残基的可能位置以用于分光光度报告。将芳香族氨基酸如酪氨酸或色氨酸掺入仅含有在280nm处具有低UV吸光度的氨基酸的肽(如SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示))中,在分析上可能是有利的。酪氨酸和色氨酸氨基酸含有芳香族环结构。这些残基具有不同的吸收和发射波长以及良好的量子产率,如表2中所示的,这不存在于其他氨基酸中。酪氨酸和色氨酸两者都可为溶液中肽的分析检测提供良好的‘处理’,因为250–300nm范围内的UV吸光度和肽荧光对这些芳香族分子是特异性的。虽然色谱检测肽如SEQ ID NO:149依赖于肽键在220nm处的吸光度,其中许多其他材料(包括溶剂中的微量杂质)也经常带来信号,含有色氨酸和酪氨酸的肽的吸光度和荧光特性可提供显著更具选择性和灵敏度的检测。因此,掺入芳香族氨基酸可产生更适合浓度和纯度测量的肽,这在分析、工艺开发、制造和其他药物开发和药物制造活动过程中是有用的。可通过将肽中的一个或多个氨基酸取代为Tyr和/或Trp,将Tyr和/或Trp插入肽中,或经由将Tyr和/或Trp添加至所述肽的N末端或C末端来实现掺入。

[0149] 表2. 色氨酸和酪氨酸的吸光度和荧光特征。

[0150]	吸光度		荧光	
	氨基酸	波长(nm)	吸收率 (M*cm) ⁻¹	量子产率
	色氨酸	280	5,600	348
	酪氨酸	274	1,400	303
				0.20
				0.14

[0151] 本公开的肽可结合至氯通道、钾通道或钠通道。所述肽还可结合至钙通道。所述肽可阻断钾通道和/或钠通道。所述肽可阻断钙通道。在一些实施方案中,所述肽可激活任何一个或多个此类通道。在一些实施方案中,所述肽可阻断任何一个或多个此类通道。在一些实施方案中,所述肽不能与任何此类通道相互作用或可突变以减少或去除与任何此类通道的结合。在又其他实施方案中,所述肽可以是钾通道激动剂、钾通道拮抗剂、部分钾通道、钠通道激动剂、钠通道拮抗剂、氯通道激动剂、氯通道拮抗剂、钙通道激动剂、钙通道拮抗剂、hadrucalcin、theraphotoxin、虎纹捕鸟蛛毒素、短肤蝎毒素、cobatoxin或凝集素。在一些实施方案中,所述凝集素可以是SHL-Ib2。在一些实施方案中,所述肽可与离子通道或氯通道相互作用,结合、抑制、失活离子通道或氯通道或改变其表达。在一些实施方案中,所述肽可与Nav1.7离子通道相互作用。在一些实施方案中,所述肽可与Kv 1.3离子通道相互作用。在又其他实施方案中,所述肽与蛋白酶、基质金属蛋白酶相互作用,抑制癌细胞迁移或转移,具有抗微生物活性或具有抗肿瘤活性。除了作用于基质金属蛋白酶外,所述肽还可与其他可能的蛋白酶(例如,弹性蛋白酶)相互作用。在一些实施方案中,本公开的肽可结合多药耐药转运蛋白。结合并阻断多药耐药转运蛋白的肽和肽药物缀合物可用于治疗细菌感染或关节和/或骨的癌。

[0152] 在一些实施方案中,所述肽对软骨或其结构或附近结构具有其他治疗效果。关节软骨中β防御素的表达可与免疫调节功能以及骨关节炎、自身免疫性风湿性病症(如系统性红斑狼疮和类风湿性关节炎)相关(Vordenbäumen 和Schneider 2011、Varoga 2004和Varoga 2005)。在一些实施方案中,所述肽或其突变体抑制β防御素,补充β防御素,是β防御素的竞争性抑制剂,激活或阻断β防御素靶标的激活,并且用作免疫调节剂,或用于治疗自身免疫、关节炎、感染和其他关节病症。

[0153] 本公开还可涵盖本文所述的各种肽的多聚体。多聚体的实例包括二聚体、三聚体、四聚体、五聚体、六聚体、七聚体等。多聚体可以由多个相同的亚基形成的同聚体或由多个不同亚基形成的异聚体。在一些实施方案中,本公开的肽与至少一个其他肽、或两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或更多个其他的肽以多聚体结构排列。在某些实施方案中,多聚体结构的肽各自具有相同的序列。在替代性实施方案中,多聚体结构的肽的一些或全部具有不同的序列。

[0154] 本公开还包括肽支架,所述肽支架例如可用作产生其他肽的起始点。在一些实施方案中,这些支架可衍生自多种胱氨酸密集肽。用于支架的一些合适的肽可包括但不限于氯毒素、布那珍、环杆菌素、stecrisp、hanatoxin、中肾蛋白聚糖、hefutoxin、马铃薯羧肽酶抑制剂、泡沫蛋白、吸引素、α-GI、α-GID、μ-PIIIA、ω-MVIA、ω-CVID、x-MrIA、ρ-TIA、conantokin G、contulakin G、GsMTx4、玛格毒素、shK、毒素K、胰凝乳蛋白酶抑制剂(CTI)和EGF表皮调节素核心。

[0155] 在一些实施方案中,本公开的肽序列侧接另外的氨基酸。一个或多个另外的氨基酸可例如,赋予肽所需的体内电荷、等电点、化学缀合位点、稳定性或生理特性。

[0156] 鉴定序列同源性对于确定保留软骨归巢功能的关键残基可能是重要的。例如,在一些实施方案中,对保守的带正电的残基的鉴定对于保留所制备的任何同源变体中的软骨归巢可能是重要的。在其他实施方案中,对碱性或芳香族二分体的鉴定对于保留同源变体中与Kv离子通道的相互作用和活性可能是重要的。

[0157] 两个或更多个肽可共享一定程度的同源性并且在体内共享相似的特性。例如,肽可与本公开的肽共享一定程度的同源性。在一些情况下,本公开的肽可与第二肽具有多至约20%成对同源性、多至约25%成对同源性、多至约30%成对同源性、多至约35%成对同源性、多至约40%成对同源性、多至约45%成对同源性、多至约50%成对同源性、多至约55%成对同源性、多至约60%成对同源性、多至约65%成对同源性、多至约70%成对同源性、多至约75%成对同源性、多至约80%成对同源性、多至约85%成对同源性、多至约90%成对同源性、多至约95%成对同源性、多至约96%成对同源性、多至约97%成对同源性、多至约98%成对同源性、多至约99%成对同源性、多至约99.5%成对同源性、或多至约99.9%成对同源性。在一些情况下,本公开的肽可与第二肽具有至少约20%成对同源性、至少约25%成对同源性、至少约30%成对同源性、至少约35%成对同源性、至少约40%成对同源性、至少约45%成对同源性、至少约50%成对同源性、至少约55%成对同源性、至少约60%成对同源性、至少约65%成对同源性、至少约70%成对同源性、至少约75%成对同源性、至少约80%成对同源性、至少约85%成对同源性、至少约90%成对同源性、至少约95%成对同源性、至少约96%成对同源性、至少约97%成对同源性、至少约98%成对同源性、至少约99%成对同源性、至少约99.5%成对同源性、至少约99.9%成对同源性。可使用各种方法和软件程序(如NCBI BLAST、Clustal W、MAFFT、Clustal Omega、Align Me、Praline或另一种合适的方法或算法)来确定两个或更多个肽之间的同源性。

[0158] 在又其他情况下,SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽的变体核酸分子可通过确定所编码的肽氨基酸序列与SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256、或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的氨基酸序列的序列同一性或同源性,或通过核酸杂交测定法来鉴定。此类肽变体可包含如下氨基酸分子:(1)在严格洗涤条件下,这些核酸分子保持与具有S SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的核苷酸序列(或先前序列的任何互补体)的核酸分子杂交,其中洗涤严格度相当于 $0.5 \times -2 \times \text{SSC}$,含0.1% SDS,在55℃-65℃下;并且(2)这些核酸分子编码与SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的氨基酸序列具有至

少70%、至少80%、至少90%、至少95%或大于95%序列同一性或同源性的肽。可替代地, SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽变体可被表征为如下氨基酸分子:(1)在高严格洗涤条件下,这些核酸分子保持与具有SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的核苷酸序列(或先前序列的任何互补体)的核酸分子杂交,其中洗涤严格度相当于 $0.1 \times -0.2 \times \text{SSC}$,含0.1%SDS,在50℃-65℃下;并且(2)这些核酸分子编码与编码SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的氨基酸序列的多核苷酸具有至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或大于95%序列同一性或同源性的肽。

[0159] 序列同一性或同源性百分比可通过常规方法来确定。参见,例如,Altschul等人, Bull. Math. Bio. 48:603 (1986), 以及Henikoff和Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915 (1992)。简言之,比对两个氨基酸序列以使用10的空位开放罚分,1的空位延伸罚分以及Henikoff和Henikoff(同上)的“BLOSUM62”评分矩阵来优化比对评分。序列同一性或同源性然后计算为:([相同匹配的总数]/[为了比对两个序列,较长序列的长度加上引入较长序列的空位数])(100)。

[0160] 另外,有许多已建立的算法可用于比对两个氨基酸序列。例如,皮尔森(Pearson)和里普曼(Lipman)的“FASTA”相似性搜索算法是合适的蛋白比对方法,用于检查由本文所公开的肽的氨基酸序列和肽变体的氨基酸序列共享的序列同一性或同源性的水平。FASTA算法由Pearson和Lipman, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444 (1988), 以及Pearson, Meth. Enzymol. 183:63 (1990) 描述。简言之,FASTA首先通过鉴定由查询序列(例如,如SEQ ID NO:128、SEQ ID NO:110或SEQ ID NO:260的参考序列)和具有最高同一性密度(如果ktup变量为1)或同一性对(如果ktup=2)的测试序列共享的区来表征序列相似性,而不考虑保守氨基酸取代、插入或缺失。然后通过使用氨基酸取代矩阵比较所有配对氨基酸的相似性来重新评分具有最高同一性密度的十个区,并且对区的末端“修剪”以仅包括有助于最高评分的那些残基。如果有若干个评分大于“截止”值的区(根据序列长度和ktup值通过预定公式计算),则检查修剪的初始区以确定这些区是否可连接形成在空位情况下的近似比对。最后,使用Needleman-Wunsch-Sellers算法的修改来比对两个氨基酸序列的最高评分区(Needleman和Wunsch, J. Mol. Biol. 48:444 (1970); Sellers, Siam J. Appl. Math. 26:787 (1974)), 其允许氨基酸插入和缺失。FASTA分析的说明性参数是:ktup=1, 空位开放罚分=10, 空位延伸罚分=1, 以及取代矩阵=BLOSUM62。可通过修改评分矩阵文件(“SMATRIX”)将这些参数引入FASTA程序,如Pearson, Meth. Enzymol. 183:63 (1990) 附录2中解释的。

[0161] FASTA还可用于使用如上所公开的比率确定核酸分子的序列同一性或同源性。对于核苷酸序列比较,ktup值的范围可在一至六之间,优选地为三至六,最优选地为三,其他参数如上所述设定。

[0162] 通过在以下每组中的氨基酸之间的取代来说明作为“保守氨基酸取代”的常见氨基酸的一些实例：(1) 甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸，(2) 苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸，(3) 丝氨酸和苏氨酸，(4) 天冬氨酸和谷氨酸，(5) 谷氨酰胺和天冬酰胺，以及(6) 赖氨酸、精氨酸和组氨酸。BLOSUM62表是一个氨基酸取代矩阵，衍生自约2,000个局部多重比对的蛋白序列区段，代表超过500组相关蛋白的高度保守区(Henikoff和Henikoff, Proc.Nat'l Acad.Sci.USA 89:10915 (1992))。因此，BLOSUM62取代频率可用于定义可引入本发明氨基酸序列的保守氨基酸取代。尽管仅基于化学特性设计氨基酸取代(如上所讨论)是可能的，但语言“保守氨基酸取代”优选地是指由大于-1的BLOSUM62值表示的取代。例如，如果取代的特征在于BLOSUM62值为0、1、2或3，则氨基酸取代是保守的。根据该系统，优选的保守氨基酸取代的特征在于BLOSUM62值至少为1(例如，1、2或3)，而更优选的保守氨基酸取代的特征在于BLOSUM62值至少为2(例如，2或3)。

[0163] 可确定对维持结构完整性至关重要的区或结构域内的氨基酸残基的确定。在这些区内，可以确定可或多或少地耐受变化并维持分子的总体三级结构的特定残基。用于分析序列结构的方法包括但不限于，对具有高氨基酸或核苷酸同一性或同源性的多个序列进行比对以及使用可用的软件(例如，分子建模软件，如PyMol、Chimera、Rosetta、Modeller、Insight II、Discover或CHARMm等，同源性建模工具，或其他适当程序)进行计算机分析、二级结构倾向、二值模式、互补堆积和内埋的极性相互作用(Barton, G. J., Current Opin. Struct. Biol. 5:372-6 (1995)，以及Cordes, M. H. 等人, Current Opin. Struct. Biol. 6:3-10 (1996))。通常，当设计对分子的修饰或鉴定特定片段时，结构的确定典型地可伴随着评估修饰的分子的活性。

[0164] 成对序列比对用于鉴定可指示两个生物序列(蛋白或核酸)之间的功能、结构和/或进化关系的相似性区。相反，多重序列比对(MSA)是三个或更多个生物序列的比对。从MSA应用的输出，可推断出同源性并且评定序列之间的进化关系。本领域技术人员将认识到，如本文所用，“序列同源性”和“序列同一性”和“序列同一性百分比(%)”和“序列同源性百分比(%)”可互换使用以意指适当与参考多核苷酸或氨基酸序列的序列相关性或变异。

[0165] 化学修饰

[0166] 可通过多种方式中的一种或多种对肽进行化学修饰。在一些实施方案中，可使所述肽突变以增加功能、删除功能或修饰体内行为。可修饰或替换二硫键之间的一个或多个环以包括来自其他肽的活性元件(如Moore和Cochran, Methods in Enzymology, 503, 第223-251页, 2012中所述)。也可使氨基酸突变，例如以增加半衰期或生物利用度，修饰、增加或删除体内结合行为，增加新的靶向功能，修饰表面电荷和疏水性，或允许缀合位点。N-甲基化是可在本公开的肽中发生的甲基化的一个实例。在一些实施方案中，可通过游离胺上的甲基化来修饰所述肽。例如，可通过使用甲醛和氰基硼氢化钠的还原性甲基化来完成完全甲基化。

[0167] 例如，化学修饰可延长终末半衰期、吸收半衰期、肽的分布半衰期，改变生物分布或药代动力学特征，或者修饰本身可用于为关节提供粘性补充。化学修饰可包含聚合物、聚醚、聚乙二醇、生物聚合物、聚氨基酸、脂肪酸、树枝状聚合物、Fc区、简单的饱和碳链(如棕榈酸酯或豆蔻酸酯)、糖、透明质酸或白蛋白。具有Fc区的肽的化学修饰可以是融合Fc-肽。聚氨基酸可包括例如具有重复单个氨基酸的聚氨基酸序列(例如，聚甘氨酸)，和具有混合

的聚氨基酸序列的聚氨基酸序列(例如, gly-ala-gly-ala (SEQ ID NO:264)) (其可或不可遵循模式), 或前述的任何组合。

[0168] 在一些实施方案中, 可修饰本公开的肽, 使得修饰增加肽的稳定性和/或半衰期。在一些实施方案中, 疏水部分的附接(如至N末端、C末端、或内部氨基酸)可用于延长本公开的肽的半衰期。在其他实施方案中, 本公开的肽可包括翻译后修饰(例如, 甲基化和/或酰胺化), 所述翻译后修饰可影响例如血清半衰期。在一些实施方案中, 简单的碳链(例如, 通过豆蔻酰化和/或棕榈酰化)可与肽复合、缀合或融合。例如, 在一些实施方案中, 简单的碳链可使复合的、缀合的或融合的肽易于与未复合的、未缀合的或未融合的材料分离。例如, 可用于从未复合的、未缀合的或未融合的材料中分离出发明所需肽的方法包括但不限于溶剂萃取和反相色谱法。在一些实施方案中, 亲脂性部分可与肽复合、缀合或融合, 并且可通过与血清白蛋白的可逆结合延长半衰期。此外, 复合、缀合或融合的部分可以是亲脂性部分, 其通过与血清白蛋白的可逆结合延长肽的半衰期。在一些实施方案中, 亲脂性部分可以是胆固醇或胆固醇衍生物, 包括胆甾烯、胆甾烷、胆甾二烯和氧甾酮。在一些实施方案中, 所述肽可与肉豆蔻酸(十四烷酸)或其衍生物复合、缀合或融合。在其他实施方案中, 本公开的肽与半衰期修饰剂偶联(例如, 复合、缀合或融合)。半衰期修饰剂的实例包括但不限于: 聚合物, 聚乙二醇(PEG), 羟乙基淀粉, 聚乙烯醇, 水溶性聚合物, 两性离子水溶性聚合物, 水溶性聚(氨基酸), 脯氨酸、丙氨酸和丝氨酸的水溶性聚合物, 含有甘氨酸、谷氨酸和丝氨酸的水溶性聚合物, Fc区, 脂肪酸, 棕榈酸, 抗体或与白蛋白结合的分子。

[0169] 在一些实施方案中, SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:220、SEQ ID NO:222、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:226、SEQ ID NO:241-SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:261和SEQ ID NO:263的前两个N末端氨基酸(GS)可充当间隔子或接头, 以便于促进与另一分子的缀合或融合, 以及以便于促进肽从此类复合、缀合或融合分子的切割。在一些实施方案中, 本公开的肽可与能改变或实现肽特性变化的其他部分复合、缀合或融合。

[0170] 活性剂缀合物

[0171] 如本文所用, 根据本公开的肽可与活性剂复合。此类“复合物”在本文中可与术语“缀合物”、“连接的”、“附接的”、“接合的”、“融合的”(例如, 作为肽融合、经由一种或多种载体表达、病毒方法、重组方法或其他方法的结果)互换使用, 或者可使用前述项的任何组合以描述本公开的任何肽与本文所公开的一种或多种活性剂的复合。可通过产生连接分子如连接肽和活性剂的化学键, 包括通过化学合成或缀合或者通过重组表达, 来形成复合物。还可以通过非共价方式, 如通过包含在颗粒、纳米颗粒、脂质体、细胞、细胞片段、膜中, 或通过其他物理或化学缔合方法来形成复合物。应当理解, 本公开的肽-活性剂复合物不受用于将活性剂复合、缀合、融合或连接至肽的方法的限制。根据本公开的肽可复合、缀合或融合至肽生物剂或包含氨基酸的其他剂(例如, 抗体或抗体片段、受体或受体片段、配体或配体片段、激素或激素片段、生长因子和生长因子片段、生物毒素及其片段、或肽的其他活性部分)、蛋白、肽、或小分子、RNA、DNA或用于在治疗软骨疾病、病症或损伤中使用的其他活性剂分子结构。小分子活性剂可包括皮质类固醇或糖皮质激素。肽活性剂缀合物可以通过本文所述的任何机制与活性剂复合、缀合或融合的肽。例如, 肽可与活性剂共价复合、缀合或融合以形成肽活性剂缀合物。肽可与活性剂化学复合、缀合或融合以形成肽活性剂缀合物。

肽和活性剂可表达为融合蛋白以形成肽活性剂缀合物。例如,抗体或其片段和肽可表达为融合蛋白以形成肽活性剂缀合物。例如,在某些实施方案中,如本文所述的肽可与另一分子如提供功能能力的活性剂融合。通过含有肽序列和活性剂序列的载体表达,肽可与活性剂复合、缀合或融合。在各种实施方案中,肽序列和活性剂序列由相同的开放阅读框(ORF)表达。在各种实施方案中,肽序列和活性剂序列可包含连续序列。可采用本领域已知的各种载体和重组系统来制备此类融合肽。与单独表达时的功能能力相比,所述肽和所述活性剂各自可在融合肽中保留相似的功能能力。

[0172] 此外,例如,在某些实施方案中,如本文所述的肽附接至另一分子,如提供功能能力的活性剂。在一些实施方案中,1、2、3、4、5、6、7、8、9或10种活性剂可连接至所述肽。可通过如缀合至多个赖氨酸残基和/或N末端的方法,或通过将多种活性剂连接至支架(如聚合物或树枝状聚合物),并且然后将该剂-支架附接至肽的方法,来附接多种活性剂(如Yurkovetskiy, A.V., *Cancer Res* 75(16):3365-72 (2015)中所述的)。

[0173] 本文所述的是可与本发明的肽复合、缀合或融合的活性剂,用于在软骨病症或肾病症或两者中使用。在一些实施方案中,某些化合物或药物适用于软骨或肾病症,取决于适应症或病症,某些药物类别可优选用于特定治疗。如本文所述,应理解,某些活性剂以非限制性示例性方式描述,用于在治疗软骨和/或肾适应症中使用。一种或多种此类活性剂可单独复合、缀合或融合至本发明的肽或与本文所述的一种或多种可检测剂组合复合、缀合或融合至本发明的肽。在一些实施方案中,可通过机制对可与本公开的任何肽复合、缀合或融合的活性剂进行分类。例如,活性剂可属于以下类别:抗炎药物、免疫抑制性(免疫抑制)药物、镇痛药/止痛药物、疾病修饰性骨关节炎药物(DMOAD)、细胞耗竭剂/细胞凋亡修饰剂、骨吸收剂和粘性补充剂,以及组织正常化(疾病修饰)药物。

[0174] 抗炎活性剂可包括但不限于皮质类固醇、糖皮质激素、非甾体抗炎药物(NSAID)、生物制剂和其他小分子。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节和肾的皮质类固醇活性剂的实例包括曲安奈德地塞米松、布地奈德、去异丁酰基环索奈德和曲安奈德。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节和肾的NSAID活性剂的实例包括萘普生和布洛芬。其他活性剂包括乙酰水杨酸和对乙酰氨基酚。NSAID活性剂可进一步分类为COX2抑制剂。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的针对前列腺素途径的COX2抑制剂活性剂的实例包括塞来昔布。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的具有抗白三烯受体拮抗剂的COX2抑制剂活性剂的实例包括孟鲁司特。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至肾的COX2抑制剂活性剂的实例包括艾拉莫德。生物活性剂可进一步分类为作为IL-1家族抑制剂、IL-17或IL-23途径抑制剂、IL-6家族抑制剂、干扰素受体抑制剂、肿瘤坏死因子(TNF)抑制剂、RANK途径抑制剂、B细胞抑制剂、抗IgE活性剂和共刺激抑制剂的活性剂。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的IL-1家族抑制剂活性剂的实例包括阿那白滞素。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的IL-17/IL-23途径抑制剂活性剂的实例包括苏金单抗。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至肾的IL-6家族抑制剂活性剂的实例包括司卢库单抗(sirukumab)。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至肾的干扰素受体抑制剂活性剂的实例包括阿尼鲁单抗(anifrolumab)。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的TNF抑制剂活性剂的实例包括英夫利昔单抗或依那西普。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送

至关节的RANK途径抑制剂活性剂的实例包括地诺单抗(denosumab)。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节和肾的B细胞抑制剂活性剂的实例包括利妥昔单抗。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至肾的抗IgE活性剂的实例包括奥马珠单抗(omalizumab)。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的共刺激抑制剂活性剂的实例包括阿巴西普(abatacept)。

[0175] 疼痛缓解活性剂可包括但不限于镇痛药、抗刺激物和疼痛受体阻断药物。镇痛药可进一步分为非麻醉剂和麻醉剂。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的非麻醉活性剂的实例包括对乙酰氨基酚。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的麻醉活性剂的实例包括羟考酮。抗刺激活性剂可进一步分类为天然产物。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的天然产物的实例包括辣椒碱。疼痛受体阻断活性剂可进一步分类为TRPV4抑制剂。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的TRPV4抑制剂活性剂的实例包括GSK2193874。

[0176] 凋亡修饰剂活性剂可包括但不限于生物制剂和小分子。生物细胞凋亡修饰剂活性剂可进一步分类为Fas/FasL抑制剂、TNF/TNFR抑制剂、TRAIL/TRAILR抑制剂、TWEAK/Fn14抑制剂、IL-1抑制剂、IL-1受体拮抗剂、生长因子和硬化蛋白抑制剂。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的TNF/TNFR抑制剂活性剂的实例包括英夫利昔单抗。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的TRAIL/TRAILR抑制剂活性剂的实例包括骨保护素。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至肾的TWEAK/Fn14抑制剂活性剂的实例包括BIIB023。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的IL-1受体拮抗剂的实例包括阿那白滞素。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的生长因子活性剂的实例包括IGF-1。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至肾的生长因子活性剂的实例包括EGF。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的硬化蛋白抑制剂活性剂的实例包括洛莫索珠单抗(romosozumab)。小分子细胞凋亡修饰剂活性剂可进一步分类为半胱天冬酶抑制剂、iNOS抑制剂、表面活性剂和二膦酸盐。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的半胱天冬酶抑制剂活性剂的实例包括ZVAD-fmk。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的iNOS抑制剂活性剂的实例包括S-甲基异硫脲。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的表面活性剂活性剂的实例包括P188。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的二膦酸盐活性剂的实例包括阿仑膦酸盐。此外,称为杀衰老细胞药(senotherapeutics)的已知类别的药物,也称为杀衰老细胞剂(senolytics)或杀衰老细胞(senolytic)药物或杀衰老细胞化合物,是指可选择性地诱导衰老细胞死亡的小分子,并且例如通过在衰老细胞中直接或间接诱导细胞凋亡。此外,杀衰老细胞剂还可经由细胞死亡的非细胞凋亡机制起作用,包括程序性坏死、自噬性细胞死亡、细胞焦亡和半胱天冬酶非依赖性细胞死亡(Journal of Cell Science 127; 2135-2144 (2014))。此类药物可减轻与年龄相关的组织或器官的恶化。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以诱导细胞凋亡或诱导经由非细胞凋亡机制的细胞死亡的药物的实例包括本文所公开的其他化合物中的槲皮素、达沙替尼、硼替佐米、卡非佐米和纳威托克斯(navitoclax)。另外的活性剂描述于以下参考文献中:Zhu,Y等人,Aging Cell 14(4):644-58(2015);Kirkland,JL,Exp Gerontol.48(1):1-5(2013);Kirkland JL和Tchkonia T,Exp Gerontol.68:19-25(2015)Tchkonia,T等人,J Clin Invest.,123(3):966-72(2013);

WO2016118859; Sugumar, D等人, Pharmagenomics Pers Med. 8:23-33 (2015); Jiafa, R等人, Sci Rep. 6:23968 (2016); Swanson, CD等人, Nat Rev Rheumatol., 5 (6):317-324 (2009); Oh, CJ等人, PLoS One, 7 (10):e45870 (2012); 以及 Adebajo, A 和 Boehncke, W, Psoriatic Arthritis and Psoriasis: Pathology and Clinical Aspects, Springer (2016)。

[0177] 组织标准化(疾病修饰)活性剂可包括但不限于生物制剂和小分子。生物活性剂可进一步分类为趋化因子(例如,用于干细胞募集)和生长因子。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的组织标准化趋化因子活性剂的实例包括MIP-3 α 。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的组织标准化生长因子活性剂的实例包括BMP-2。小分子活性剂可进一步分类为类黄酮、ACE抑制剂和抗增殖活性剂。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的组织标准化类黄酮活性剂的实例包括淫羊藿苷。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至肾的组织标准化ACE抑制剂活性剂的实例包括卡托普利。可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以递送至关节的组织标准化抗增殖活性剂的实例包括甲氨蝶呤。如本文所用,皮质类固醇可以指糖皮质激素和盐皮质激素化合物两者(例如,如例如由肾上腺皮质产生的激素的模拟物),但是在本文中也以非限制性方式使用皮质类固醇作为糖皮质激素的同义词。

[0178] 表3描述了用于治疗软骨病症的活性剂,所述活性剂可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以形成肽-药物缀合物。

[0179] 表3-用于软骨病症的示例性活性剂

[0180]

活性剂类	活性剂
金化合物	金
金化合物	金诺芬
金化合物	金硫丁二钠
金化合物	硫葡萄糖金
金化合物	硫代苹果酸
金化合物	金硫代硫酸盐
镇痛药	曲马多(例如, 盐酸曲马多、及通安錠)和衍生物
镇痛药	羟考酮(例如, 扑热息痛、奥施康定)和衍生物
镇痛药	氢可酮(例如, 耐而可(Norco)、布洛芬(Vicoprofen))
镇痛药	吗啡
镇痛药	芬太尼
镇痛药	羟吗啡酮
镇痛药	氢化吗啡酮
镇痛药	哌替啶
镇痛药	丁丙诺啡
镇痛药	美沙酮
二膦酸盐	阿仑膦酸盐

[0181]

活性剂类	活性剂
二膦酸盐	伊班膦酸盐
二膦酸盐	利塞膦酸盐
二膦酸盐	帕米膦酸盐
二膦酸盐	唑来膦酸盐
非含氮第一代二膦酸盐	氯膦酸盐
非含氮第一代二膦酸盐	依替膦酸盐
非含氮第一代二膦酸盐	替鲁膦酸盐
骨吸收抑制剂	骨保护素(OPG)
硬化蛋白拮抗剂/细胞凋亡抑制剂	AMG785 (洛莫索珠单抗)
半胱天冬酶-1 ICE 抑制剂	VX-740 (普那卡生)
抗刺激物	薄荷脑
抗刺激物	辣椒碱
RANKL 靶向剂	地诺单抗
组织蛋白酶 K 靶向剂	奥当卡替
TNF- α 拮抗剂	CDP571
TNF- α 拮抗剂	ISIS 104838
抗疼痛药物	度洛西汀
聚合物	低分子量壳聚糖
基质药物	硫酸软骨素葡萄糖胺
细胞因子/生长因子	TGF- β
基质	层粘连蛋白
基质	纤连蛋白
基质	人润滑素
基质	透明质酸注射剂
基质	葡萄糖胺
免疫抑制剂	雷帕霉素
HIF-1 α 调节剂	
HIF-2 α 调节剂	
皮质类固醇	疏氢可的松
糖皮质激素/皮质类固醇	乙酸氢化可的松
糖皮质激素/皮质类固醇	乙酸氢化可的松叔丁酯
糖皮质激素/皮质类固醇	乙酸泼尼松龙

[0182]

活性剂类	活性剂
醇	
糖皮质激素/皮质类固醇	乙酸泼尼松龙叔丁酯
皮质类固醇	乙酸地塞美松
皮质类固醇	乙酸地塞米松叔丁酯
糖皮质激素/皮质类固醇	双醋曲安西龙

[0183] 表4描述了用于治疗肾病症的活性剂,所述活性剂可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以形成肽-药物缀合物。

[0184] 表4-用于肾病症的示例性活性剂

[0185]

活性剂类	活性剂
ACE 抑制剂	卡托普利
血管紧张素受体阻断剂	血管紧张素受体阻断剂氯沙坦(科素亚)
激素	促肾上腺皮质激素
激素	促肾上腺皮质激素释放激素
抗真菌药	两性霉素 B
强心苷	毛地黄(和相关糖苷)
利尿剂	钾耗竭利尿剂
抗凝剂	香豆素
NLRP3 炎症小体靶向的药物	MCC950
NLRP3 炎症小体靶向的药物	BHB
NLRP3 炎症小体靶向的药物	I 型干扰素/干扰素 α
NLRP3 炎症小体靶向的药物	IFN- β
NLRP3 炎症小体靶向的药物	白藜芦醇
NLRP3 炎症小体靶向的药物	阿加来必
NLRP3 炎症小体靶向的药物	CB2R 激动剂
NLRP3 炎症小体靶向的药物	微小 RNA-223
双胍	二甲双胍
免疫抑制	mTOR 调节剂
免疫抑制和抗增殖	FOXO4 肽
抗炎, 免疫抑制	雷公藤甲素
抗氧化剂	α -硫辛酸
检查点抑制剂	纳武单抗
检查点抑制剂	派姆单抗

[0186]

活性剂类	活性剂
检查点抑制剂	皮地立珠单抗(pidilizumab)
检查点抑制剂	Bmx-936559
检查点抑制剂	阿特殊单抗(Atezolizumab)
检查点抑制剂	阿维鲁单抗(Avelumab)
抗生素	青霉素
青霉素	阿莫西林
抗生素	头孢菌素
头孢菌素	头孢氨苄
抗生素	大环内酯类
大环内酯类	阿奇霉素
抗生素	氟喹诺酮
氟喹诺酮	环丙沙星
抗生素	磺酰胺
磺酰胺	复方新诺明
抗生素	四环素
四环素	强力霉素
抗生素	氨基糖苷
利尿剂	袪利尿剂
利尿剂	钾保留利尿剂
利尿剂	氯噻嗪
利尿剂	氯噻酮
利尿剂	美托拉宗(Metolazone)
利尿剂	呋达帕胺
盐皮质激素	
肾素抑制剂	
肾素抑制剂	阿利吉仑(aliskiren)
肾素抑制剂	胃酶抑素
肾素抑制剂	他汀
肾素抑制剂	cgp2928
肾素抑制剂	瑞米吉仑(remikiren)
肾素抑制剂	依那吉仑(enalkiren)
肾素抑制剂	赞吉伦(zankiren)
SGLT 调节剂	达格列净
SGLT 调节剂	卡格列净
SGLT 调节剂	恩格列净
	乙酰水杨酸
类固醇	单丙酸倍氯米松
IL-17 抑制剂	
	卡斯帕星(Caspaicin)

[0187]

活性剂类	活性剂
	地拉罗司
	奥美沙坦
	L-谷氨酸聚合物
	替拉扎特(Tirilazad)
膳食黄酮醇	
siRNA	
雷帕霉素类似物	RAD001
抗刺激物	胡椒碱
抗刺激物	芥子油
抗刺激物	丁香酚
抗刺激物	姜黄素
抗刺激性辣椒碱样分子	树脂毒素(RTX)

[0188] 表5描述了用于治疗软骨病症和肾病症的活性剂,所述活性剂可与本公开的任何肽复合、缀合或融合以形成肽-药物缀合物。

[0189] 表5-用于软骨病症和肾病症的示例性活性剂

[0190]

活性剂类	活性剂
IL-6 受体调节剂	托珠单抗
IL-6 受体调节剂	三瑞林单抗(Sarilumab)
IL-6 受体调节剂	ALX-0061
IL-6 受体调节剂	司卢库单抗
IL-6 受体调节剂	克莱赞珠单抗(Clazakizumab)
IL-6 受体调节剂	奥鲁凯珠单抗(Olokizumab)
IL-6 受体调节剂	MEDI5117
IL-17 拮抗剂	苏金单抗
IL-17 拮抗剂	布朗德柳单抗(Brodalumab)
IL-17 拮抗剂	伊珠单抗
IL-12/IL-23 的 p40 亚基的拮抗剂	优特克单抗
IL-12/IL-23 的 p40 亚基的拮抗剂	布雷奴单抗(Briakinumab)
IL-23 的 p19 亚基的拮抗剂	替加珠单抗(Tildrakizumab)
IL-23 的 p19 亚基的拮抗剂	古塞库单抗(Guselkumab)
IL-23 拮抗剂	可溶性 IL-23 (或可溶性 IL-23 的细胞因子结合同源性区)

[0191]

活性剂类	活性剂
IL-1 拮抗剂	康纳单抗
IL-1 拮抗剂	利纳西普
IL-1 拮抗剂	加沃坦珠单抗(Gevokizumab)
IL-1 拮抗剂	LY2189102
IL-1 拮抗剂	慢病毒介导的 RNAi
IL-12 拮抗剂	
IL-1 受体拮抗剂	阿那白滞素(Anakinra/Kineret)
IL-1 受体拮抗剂	MEDI-8968
IL-1 拮抗剂	AMG-108
白细胞介素/促炎性 细胞因子	促炎性 IL-1 α 或 IL-1 β
白细胞介素	IL-8
白细胞介素	IL-15
白细胞介素	IL-18
白细胞介素	IL-4
白细胞介素	IL-10
白细胞介素	IL-13
白细胞介素	IL-22
白细胞介素	IL-17
白细胞介素	IL-6、IL-12、IL-23
p38 抑制剂	VX-745
p38 抑制剂	BIRB 796
p38 抑制剂	SCIO-469
p38 抑制剂	VX-702
p38 抑制剂	帕吡莫德
p38 抑制剂	ARRY-797
皮质类固醇	17-单丙酸倍氯米松
皮质类固醇	去异丁酰基环索奈德(Desciclesonide)(也称为脱 异丁酰基环索奈德(des-isobutyrylciclesonide)、去 异丁酰基环索奈德(des-ciclesonide)、C21-去异丁 酰基环索奈德或 RM1)
皮质类固醇	氟尼缩松
皮质类固醇	糠酸莫米他松
皮质类固醇	22-羟基中间体布地奈德衍生物
皮质类固醇	6 β -羟基布地奈德衍生物
皮质类固醇	Δ 6-布地奈德衍生物
皮质类固醇	23-羟基布地奈德衍生物
皮质类固醇	16 α -丁氧基泼尼松龙布地奈德衍生物
皮质类固醇	16 α -羟基泼尼松龙布地奈德衍生物

[0192]

活性剂类	活性剂
皮质类固醇(倍氯米松)	QVAR 吸入剂
皮质类固醇(布地奈德)	普米克令舒
皮质类固醇	氟替卡松 HFA 44
皮质类固醇(莫米松)	糠酸莫米松 HFA
皮质类固醇(莫米松)	布地奈德信必可
皮质类固醇	地塞美松磷酸钠
皮质类固醇	疏氢可的松
皮质类固醇	环索奈德
糖皮质激素	21-去甲曲安奈德
糖皮质激素	Δ 6-曲安奈德
糖皮质激素	6b-羟基曲安奈德
糖皮质激素	21-羧基曲安奈德
糖皮质激素	6b-OH, 21-COOH 曲安奈德
糖皮质激素	6 α 氟皮质醇
糖皮质激素	9 α 氟皮质醇
糖皮质激素	泼尼松龙中的 Δ 1-脱氢构型
糖皮质激素	16-亚甲基地塞米松衍生物
糖皮质激素	16 α -甲基地塞米松衍生物
糖皮质激素	16 β -甲基倍他米松衍生物
糖皮质激素	环磷酸胺
免疫抑制	麦考酚酯
糖皮质激素/盐皮质激素	皮质醇
糖皮质激素/盐皮质激素	氢化可的松
糖皮质激素/盐皮质激素	泼尼松龙
糖皮质激素/盐皮质激素	倍他米松
糖皮质激素	氟替卡松
糖皮质激素	丙酸氟替卡松
类固醇(氟尼缩松)	氟尼缩松(Aerobid)
类固醇(氟尼缩松)	氟尼缩松-M
类固醇(氟尼缩松)	Aerospan
类固醇(氟尼缩松)	糠酸氟替卡松
类固醇(氟替卡松)	氟替卡松 HFA 110
类固醇(氟替卡松)	氟替卡松 HFA 220

[0193]

活性剂类	活性剂
类固醇(氟替卡松)	氟替卡松干粉吸入剂 50 (Flovent Diskus 50)
类固醇(氟替卡松)	糠酸莫米松
类固醇	乙酸倍他米松
类固醇	倍他米松磷酸钠
类固醇	戊酸倍他米松
类固醇	二丙酸倍氯米松
局部麻醉剂	盐酸普鲁卡因
局部麻醉剂	奴佛卡因
麻醉剂	盐酸布比卡因
麻醉剂	盐酸利多卡因
局部麻醉剂	盐酸罗哌卡因
镇痛药	吗啡
镇痛药	芬太尼
喹唑啉类	吉非替尼/易瑞沙
喹唑啉类	索拉非尼/索拉非尼
喹唑啉类	二甲苯磺酸拉帕替尼/拉帕替尼(Tykerb/Tyverb)
喹唑啉类	舒尼替尼(Sunitinib/Sutent)
喹唑啉类	硼替佐米(Bortezomib/Velcade/Cytomib)
喹唑啉类	依维莫司/替西罗莫司
喹唑啉类	IAPS 的抑制剂
喹唑啉类	半胱天冬酶途径的激活剂
喹唑啉类	AKT 途径的激活剂
喹唑啉类	丙基肽酶抑制剂
喹唑啉类	p53 的激活剂
喹唑啉类	抗细胞凋亡蛋白抑制剂的抑制剂
脯氨酰羟化酶(PHD) 抑制剂	去铁胺
脯氨酰羟化酶(PHD) 抑制剂	二甲基草酰甘氨酸(DMOG)
脯氨酰羟化酶(PHD) 抑制剂	L-含羞草氨酸(L-mim)
适体	肽适体
适体	RNA 适体 A-p50
适体	肽 A 适体 TrxLef1D
适体	适体 E07
适体	适体吉西他滨聚合物
适体	RAGE
适体	哌加他尼
蛋白酶体抑制剂	硼替佐米

[0194]

活性剂类	活性剂
蛋白酶体抑制剂	卡非佐米
第二代蛋白酶体抑制剂	伊沙佐米
第二代蛋白酶体抑制剂	德兰佐米(Delanzomib)
第二代蛋白酶体抑制剂	奥泼佐米
第二代蛋白酶体抑制剂	麻瑞佐米
细胞凋亡抑制剂	FLIP 激动剂
细胞凋亡抑制剂	一氧化氮合酶抑制剂
细胞凋亡抑制剂	半胱天冬酶-3 抑制剂(Z-DEVD-fmk (SEQ ID NO: 265))
细胞凋亡抑制剂	半胱天冬酶-9 抑制剂(Z-LEHD-fmk (SEQ ID NO: 266))
细胞凋亡抑制剂	硬化蛋白拮抗剂
细胞凋亡抑制剂/生长因子	IGF-1
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	奥利莫森
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	奥巴克拉(Obatoclax)
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	纳威托克斯(Navitoclax)
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	维奈托克(ABT-199)
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	Navotoclax (ABT-263)
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	GX01 化合物系列
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	BCL-2 小分子拮抗剂
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	Tetraocarcin-A 衍生物
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	白屈菜赤碱
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	抗霉素 A 衍生物
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	HA14-1

[0195]

活性剂类	活性剂
亡抑制剂	
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	BH3 的合成化合物拮抗剂
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	根纳三思(Genasense)
BCL-2 激动剂细胞凋亡抑制剂	ISIS 22783
BCL-2/BCL-XL 激动剂细胞凋亡抑制剂	双特异性反义
促细胞凋亡 BCL-2 靶向药物	Bax、Bak、Bid、Bad 衍生的 BH3 肽
促细胞凋亡 BCL-2 靶向药物	SAHB
促细胞凋亡 BCL-2 靶向药物	BH3Is
BCL-2/BCL-XL 激动剂细胞凋亡抑制剂	ABT-737
BCL-X 抑制剂	
细胞凋亡修饰剂	半胱天冬酶-1 抑制剂
细胞凋亡修饰剂	半胱天冬酶-8 抑制剂
泛半胱天冬酶半胱天冬酶抑制剂	IDN-6556
泛半胱天冬酶半胱天冬酶抑制剂	IDN-6734
泛半胱天冬酶半胱天冬酶抑制剂	VX-799
泛半胱天冬酶抑制剂	MX1013
泛半胱天冬酶半胱天冬酶抑制剂	M-920
泛半胱天冬酶半胱天冬酶激活剂	MX-2060 衍生物
泛半胱天冬酶半胱天冬酶激活剂	小分子化合物
泛半胱天冬酶半胱天冬酶激活剂	RGD 肽
泛半胱天冬酶抑制剂	ZVAD-fmk
半胱天冬酶-1 ICE 抑制剂	IDN-11104
半胱天冬酶-1 ICE 抑	VX-756

[0196]

活性剂类	活性剂
制剂	
半胱天冬酶-3 抑制剂	M-826
半胱天冬酶-3 抑制剂	M-791
半胱天冬酶-3 抑制剂	免疫半胱天冬酶-3
半胱天冬酶-3 抑制剂	Ad-G/iCasp3
半胱天冬酶-3 抑制剂	PEF-F8-CP3
半胱天冬酶-6 抑制剂	Immunocasp-6
半胱天冬酶-9 抑制剂	FKBP12/半胱天冬酶-9 融合蛋白
IAP 拮抗剂	BIR3 拮抗剂
XIAP 拮抗剂	加帽三肽 XIAP 拮抗剂
XIAP 拮抗剂	Smac 模拟物化合物
XIAP 拮抗剂	AEG35156/GEM®640
XIAP 抑制剂	恩贝素
XIAP 抑制剂	XIAP 反义和 RNA 构建体
XIAP/cIAP-1/cIAP-2 抑制剂	小分子 SMAC 模拟物
IAP/半胱天冬酶抑制剂	HIV-Tat/聚精氨酸复合的 SMAC 肽
BIR2/半胱天冬酶-3 抑制剂	TWX024
BIR2 抑制剂	聚苯脲衍生物
生存素靶向药物	LY2181308
生存素靶向药物	Ad-生存素 T34A
抗 TWEAK 细胞凋亡修饰剂	BIIB023
黄嘌呤氧化酶抑制剂	别嘌呤
黄嘌呤氧化酶抑制剂	非布索坦
黄嘌呤氧化酶抑制剂	别嘌呤醇
生长因子	bFGF
生长因子	IGF
生长因子	TFG-β
生长因子	BMP-2
生长因子	BMP-9
生长因子	BMP-13
生长因子	BMP-7
生长因子	BMP-3 抑制剂
生长因子	TFG-β1
生长因子	OP-1
生长因子	PDGF

[0197]

活性剂类	活性剂
生长因子	PTH
生长因子	PTHrP
生长因子	MIP-3 α
生长因子	EPO
生长因子	FGF
生长因子	FGF-2
生长因子	FGF-18
生长因子	TGF- β 3
生长因子	VEGF
生长因子	Wnt 蛋白
生长因子	EGF
生长因子	GM-CSF
类黄酮	淫羊藿苷
类黄酮	槲皮苷
酪氨酸激酶抑制剂 (Lck/Btk 抑制剂)	达沙替尼
TRPV4 激活剂	GSK1016790A
TRPV4 激活剂	4 α -PDD
TRPV4 抑制剂	HC-067047
TRPV4 抑制剂	GSK2193874
NSAID	Ampion
NSAID	苯基丁氮酮
NSAID	萘普生溶菌酶缀合物
NSAID	乙酰水杨酸
DMARD	柳氮磺胺吡啶
DMARD	来氟米特
DMARD	羟化氯喹(Plaquenil)
疾病修饰性骨关节炎 药物(DMOAD)	FGF-18
促尿酸排泄药	磺吡酮
MSC 基质	胶原蛋白
MSC 基质	纤维蛋白
MSC 基质	Polylactatous
表面活性剂	P188 和其他表面活性剂
针对骨髓微环境的分子	血管生成素
针对骨髓微环境的分子	骨形态发生蛋白
儿茶酚胺	肾上腺素

[0198]

活性剂类	活性剂
针对骨髓微环境的分子	去甲肾上腺素
针对骨髓微环境的分子	GDF5
针对骨髓微环境的分子	ICAN1
针对骨髓微环境的分子	Jagged1
针对骨髓微环境的分子	骨桥蛋白
针对骨髓微环境的分子	甲状旁腺激素
针对骨髓微环境的分子	降血钙素
针对骨髓微环境的分子	青灰因子
针对骨髓微环境的分子	血小板生成素
针对骨髓微环境的分子	血管细胞粘附分子 1
针对骨髓微环境的趋化分子	CXCL12
B 细胞靶向剂	利妥昔单抗
B 细胞靶向剂	BLys
B 细胞靶向剂	TACI
T 细胞共刺激拮抗剂	阿巴西普
JAK 靶向剂	托法替尼(Tofacitinib)
钙调磷酸酶抑制剂	他克莫司(Tacrolimus)
钙调磷酸酶抑制剂	环孢菌素
钙调磷酸酶抑制剂	伏环孢素(Voclosporin)
COX-2 抑制剂	艾拉莫德
白三烯抑制剂	孟鲁司特
COX-2 抑制剂	罗非考昔
COX-2 抑制剂	伐地考昔
干扰素受体抑制剂	阿尼鲁单抗(Anifrolumab)
IFN- α 抑制剂	西法木单抗
抗 IgE 剂	奥马珠单抗
iNOS 抑制剂	S-甲基异硫脲
CD20 拮抗剂/B 细胞	奥美珠单抗

[0199]

活性剂类	活性剂
抑制剂	
BAFF 拮抗剂/B 细胞抑制剂	贝利单抗
TNF 超家族 BAFF 和 APRIL 拮抗剂/B 细胞抑制剂	阿塞西普
TNF- α 拮抗剂	萨力多胺
TNF- α 拮抗剂	来那度胺
TNF- α 拮抗剂	泊马度胺
TNF- α 拮抗剂	己酮可可碱(Pentocifylline)
TNF- α 拮抗剂	丁氨苯丙酮
TNF 拮抗剂	慢病毒介导的 RNAi
TNF 激动剂	重组 TNF- α
TRAIL 受体激动剂	HGS-ETR1
TRAIL 受体激动剂	HGS-ETR2
TRAIL 受体激动剂	HGS-TR2J
TRAIL 受体激动剂	PRO1762
TRAIL 受体激动剂	TRA-8
CD95/Fas 激动剂	CD95-Fc
海洋生物活性化合物	TRAIL 耐受克服海洋生物活性化合物
海洋生物活性化合物	mazamine A
海洋生物活性化合物	源自海洋的色霉素
海洋生物活性化合物	类胡萝卜素
海洋生物活性化合物	海兔素
海洋生物活性化合物	阿普立定
海洋生物活性化合物	管藻黄素
海洋生物活性化合物	扇贝毒素-2
抗补体药物	依库丽单抗
PAR-2 调节剂	Pepducin P2pal-18
miR-2013 阻断剂	反义寡核苷酸
Nrf2 激活剂	富马酸二甲酯
p53 靶向药物	INGN201
p53 靶向药物	SCH58500
p53 靶向药物	ONYX-015
p53 靶向药物	C 末端 p53 肽
p53 靶向药物	CDB3
p53 靶向药物	CP31398
p53 靶向药物	普瑞玛(Prima)-1
p53 靶向药物	HPV E6 结合肽适体

[0200]

活性剂类	活性剂
p53 靶向药物	Nutlin
p53 靶向药物	查耳酮
p53 靶向药物	小肽
p53 靶向药物	皮斐松- α
p53 靶向药物/细胞凋亡修饰剂(T 细胞)	QP1-1002
Apaf-1 靶向药物/细胞凋亡修饰剂(T 细胞)	QM56
Apaf-1 靶向药物/细胞凋亡修饰剂(T 细胞)	SVT016426
Ferrostatin	16/86
BASP1 靶向药物/细胞凋亡修饰剂(T 细胞)	BASP siRNA
抗炎药物	CCX140
抗炎药物	CXA-10
抗炎药物/抗纤维化药物	碱性磷酸酶
抗纤维化药物	Dnmt1 抑制剂
抗炎药物/细胞凋亡修饰剂(T 细胞)	THR-184
免疫调节	锂
β 2-肾上腺素激动剂	福莫特罗
抗炎药物	CRMD-001
内皮素-1 靶向药物	Astrasentan
加压素受体拮抗剂	托伐普坦
加压素受体拮抗剂	RWJ-676070
免疫抑制剂	咪唑硫嘌呤
免疫抑制剂	霉酚酸
免疫抑制剂	环孢霉素
免疫调节剂	拉喹莫德
慢作用抗风湿药(SAARD)	
	秋水仙碱
激素	甲状旁腺激素
激素	生长激素
	11- β 羟基类固醇脱氢酶
	盐皮质激素

[0201]

活性剂类	活性剂
	阿黑皮素原
	乙酸氟氢可的松 (fludrocortisonesoxycorticosterone acetate)
	来自活减毒病毒的疫苗
	阿司匹林
	胰岛素
	Isonizaid
	口服降血糖剂
	抗酸剂
	卡马西平
	消胆胺
	考来替泊
	麻黄素
	红霉素
	米托坦
	口服避孕药
	苯巴比妥
	苯妥英
	利福平
	醋竹桃霉素
	非选择性半胱天冬酶抑制剂
	冈田酸
	Camptothetic
	星形孢菌素
	HFA
	环索奈德吸入剂
	氟替卡松维兰特罗(Breo Ellipta)
	舒利迭
	莫米松
	从杜乐拉
	茚地铵(Umeclidinium)
	欧乐欣
活性氧物质靶向药物	
细胞因子/生长因子	TGF- β
NOD 样受体蛋白 3- 依赖性半胱天冬酶 1 靶向药物	
NSAID	依托考昔
细胞凋亡修饰剂	MCL1 抑制剂

[0202]

活性剂类	活性剂
	特立帕肽
	BH3 模拟物
	AZD 4320
载体蛋白	低分子量人血清白蛋白
神经酰胺靶向药物	
DMARD	青霉胺
软骨形成因子	
抗氧化因子	
A(1)AR 激动剂	
S1P(2)R 拮抗剂	
抗疟疾药	
BAX/BAK 激活药物	
选择性 GR 激活剂 (SEGRA)	
Rap1 靶向的药物	
杀衰老细胞剂	肝配蛋白配体(EFN) B1 阻断剂
杀衰老细胞剂	细胞周期素依赖性激酶抑制剂 1A (p21)磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 3-激酶 δ 催化亚基(PI3KCD)阻断剂
杀衰老细胞剂	血纤维蛋白溶酶原激活抑制剂-2 (PAI-2)阻断剂
衰老相关分泌表型 (SASP)抑制剂	
激素	替可克肽
肽	寡肽
肽	多肽
肽	肽模拟物
核酸	多核苷酸
核酸	多核糖核苷酸
核酸	寡核苷酸
核酸	DNA
核酸	cDNA
核酸	ssDNA
核酸	RNA
核酸	dsRNA
核酸	微小 RNA
核酸	干扰 RNA
核酸	适体
抗体	单链可变片段(scFv)
抗体	抗体片段

[0203]

活性剂类	活性剂
肽	适体
抗体	Fc 结构域
抗体	Fc 区
抗体	Fc 活性片段或其修饰
细胞因子	
细胞因子拮抗剂	马瑞林单抗
细胞因子拮抗剂	伊珠单抗
细胞因子拮抗剂	托珠单抗
细胞因子拮抗剂	阿那白滞素
细胞因子拮抗剂	优特克单抗
细胞因子拮抗剂	苏金单抗
干扰素	
激素	
酶	
生长因子	
检查点抑制剂	
CD 抗原	
趋化因子	
神经递质	
离子通道抑制剂	
G-蛋白偶联受体抑制剂	
G-蛋白偶联受体激活剂	
肿瘤坏死因子抑制剂	
化学试剂	
放射致敏剂	
辐射防护剂	
放射性核素	
治疗性小分子	
类固醇	
皮质类固醇	
抗炎剂	
免疫调节剂	阿巴西普
免疫调节剂	利妥昔单抗
补体结合肽或蛋白	
肿瘤坏死因子家族抑制剂	肿瘤坏死因子(TNF)可溶性受体或抗体
肿瘤坏死因子家族激	

[0204]

活性剂类	活性剂
活剂	
肿瘤坏死因子(TNF) 可溶性受体或抗体	
半胱天冬酶蛋白酶抑 制剂或激活剂	
NF- κ B、RIPK1 和/或 RIPK3 抑制剂	
NF- κ B、RIPK1 和/或 RIPK3 激活剂	
死亡受体配体激活剂 或抑制剂	
肿瘤坏死因子家族激 动剂	TNFR1
肿瘤坏死因子家族激 动剂	TNFR2
肿瘤坏死因子家族激 动剂	CD27/TNFRSF7
肿瘤坏死因子家族激 动剂	CD30/TNFRSF8
肿瘤坏死因子家族激 动剂	OX40/TNFRSF4
肿瘤坏死因子家族激 动剂	CD40/TNFRSF5
肿瘤坏死因子家族激 动剂	4-1BB/TNFRSF9
肿瘤坏死因子家族激 动剂	RANK (NF- κ B/TNFRSF11A 的受体激活剂)
肿瘤坏死因子家族激 动剂	TWEAK 受体/TNFRSF12A
肿瘤坏死因子家族激 动剂	TAC1/TNFRSF13B
肿瘤坏死因子家族激 动剂	BAFF-R (BAFF 受体/TNFRSF13C)
肿瘤坏死因子家族激 动剂	HVEM (疱疹病毒进入介质/TNFRSF14)
肿瘤坏死因子家族激 动剂	REL1/TNFRSF19L
肿瘤坏死因子家族激 动剂	外异蛋白 A2 同种型受体/TNFRSF27

[0205]

活性剂类	活性剂
肿瘤坏死因子家族激动剂	外异蛋白 A1
TNF 家族成员	止汗受体
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	诱饵受体 3/TNFRSF6B
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	诱饵受体 1/TNFRSF10C
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	诱饵受体 2/TNFRSF10D
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	DR3 (死亡受体 3/TNFRSF25)
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	DR4 (死亡受体 4/TNFRSF10A)
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	DR5 (死亡受体 5/TNFRSF10B)
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	DR6 (死亡受体 6/TNFRSF21)
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	Fas/TNFRSF6
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	淋巴毒素 b 受体/TNFRS3
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	OPG (骨保护素/TNFRSF11B)
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	神经生长因子受体/TNFRSF16
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	BCMA (B 细胞成熟抗原/TNFRSF17)
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	GITR (糖皮质激素诱导的 TNF 受体/TNFRSF18)
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	TAJ (毒性和 JNK 诱导物/TNFRSF19)
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	TNFRSF22
肿瘤坏死因子家族拮抗剂	TNFRSF23
TNF 受体超家族配体	TNF α
TNF 受体超家族配体	淋巴毒素-a
TNF 受体超家族配体	肿瘤坏死因子膜形式
TNF 受体超家族配体	肿瘤坏死因子脱落形式

[0206]

活性剂类	活性剂
TNF 受体超家族配体	LIGHT
TNF 受体超家族配体	淋巴毒素 b2a1 异三聚体
TNF 受体超家族配体	OX-40 配体
TNF 受体超家族配体	化合物 1 [PMID: 24930776]
TNF 受体超家族配体	CD40 配体
TNF 受体超家族配体	Fas 配体
TNF 受体超家族配体	TL1A
TNF 受体超家族配体	CD70
TNF 受体超家族配体	CD30 配体
TNF 受体超家族配体	TRAF1
TNF 受体超家族配体	TRAF2
TNF 受体超家族配体	TRAF3
TNF 受体超家族配体	TRAIL
TNF 受体超家族配体	RANK 配体
TNF 受体超家族配体	APRIL
TNF 受体超家族配体	BAFF
TNF 受体超家族配体	B 和 T 淋巴细胞弱化子
TRK 受体超家族配体	NGF
TRK 受体超家族配体	BDNF
TRK 受体超家族配体	神经营养素-3
TRK 受体超家族配体	神经营养素-4
TNF 受体超家族配体	TL6
TNF 受体超家族配体	外异蛋白 A2
TNF 受体超家族配体	外异蛋白 A1
TNF 阻断剂	类克(英夫利昔)
TNF 阻断剂	Enbrel (依那西普)
TNF 阻断剂	修美乐(阿达木单抗)
TNF 阻断剂	赛妥珠单抗(妥珠单抗)
TNF 阻断剂	欣普尼(戈利木单抗)
肿瘤坏死因子受体家族激动剂	
Toll 样受体激动剂	
TIMP-3 抑制剂	
BCL-2 家族抑制剂	
IAP 干扰物	
蛋白酶抑制剂	
氨基糖	
化学治疗剂	
细胞毒性化学药物	

[0207]

活性剂类	活性剂
毒素	
酪氨酸激酶抑制剂	甲磺酸伊马替尼
质子	
抗血管剂	贝伐单抗
EGFR 抑制剂	埃罗替尼
抗感染剂	
抗生素	
抗病毒剂	
抗真菌剂	
氨基糖苷	
他汀	
纳米颗粒	
脂质体	
聚合物	生物聚合物
多糖	
蛋白多糖	
葡糖氨基葡聚糖	
聚乙二醇	
脂质	
树枝状聚合物	
脂肪酸	
糖皮质激素	
皮质类固醇	
胶原蛋白酶抑制剂	
基质金属蛋白酶抑制剂	MMP-13 抑制剂
维生素	维生素 D
抗生素	
抗病毒药	
抗真菌药	
他汀	
免疫调节剂	
放射性同位素	
毒素	
酶	
致敏药物	
抗血管生成剂	顺铂
抗血管生成剂	抗代谢物
抗血管生成剂	有丝分裂抑制剂

[0208]

活性剂类	活性剂
抗血管生成剂	生长因子抑制剂
化学治疗剂	紫杉醇
化学治疗剂	替莫唑胺
化学治疗剂	拓扑替康
化学治疗剂	氟二氧嘧啶
化学治疗剂	长春新碱
化学治疗剂	长春花碱
化学治疗剂	甲基苄肼
化学治疗剂	钨烯咪胺
化学治疗剂	六甲蜜胺
化学治疗剂	甲氨蝶呤
化学治疗剂	巯嘌呤
化学治疗剂	硫鸟嘌呤
化学治疗剂	磷酸氟达拉滨
化学治疗剂	克拉屈滨
化学治疗剂	喷司他丁
化学治疗剂	阿糖胞苷
化学治疗剂	阿扎胞苷
化学治疗剂	依托泊苷
化学治疗剂	替尼泊苷
化学治疗剂	伊立替康
化学治疗剂	多西他赛
化学治疗剂	多柔比星
化学治疗剂	道诺霉素
化学治疗剂	更生霉素
化学治疗剂	伊达比星
化学治疗剂	普卡霉素
化学治疗剂	丝裂霉素
化学治疗剂	争光霉素
化学治疗剂	它莫西芬
化学治疗剂	氟他胺
化学治疗剂	亮丙瑞林
化学治疗剂	戈舍瑞林
化学治疗剂	氨鲁米特(Aminogluthimide)
化学治疗剂	阿纳托唑
化学治疗剂	安吖啶
化学治疗剂	天冬酰胺酶
化学治疗剂	米托蒽醌
化学治疗剂	米托坦

[0209]

活性剂类	活性剂
化学治疗剂	氨磷汀
细胞凋亡剂	
细胞死亡或细胞杀伤剂	半胱天冬酶
细胞凋亡激活剂	
细胞凋亡抑制剂	XBP-1
细胞凋亡抑制剂	Bcl-2
细胞凋亡抑制剂	Bcl-Xl
细胞凋亡抑制剂	Bcl-w
非甾体抗炎药物 (NSAID)	COX-2 抑制剂
非甾体抗炎药物 (NSAID)	酮咯酸
非甾体抗炎药物 (NSAID)	吲哚美辛
非甾体抗炎药物 (NSAID)	依托度酸
非甾体抗炎药物 (NSAID)	托美汀
非甾体抗炎药物 (NSAID)	萘普生
非甾体抗炎药物 (NSAID)	烯醇酸衍生物
非甾体抗炎药物 (NSAID)	邻氨基苯甲酸衍生物
非甾体抗炎药物 (NSAID)	塞来昔布
非甾体抗炎药物 (NSAID)	磺酰苯胺
非甾体抗炎药物 (NSAID)	水杨酸盐
非甾体抗炎药物 (NSAID)	乙酰氯芬酸
非甾体抗炎药物 (NSAID)	纳布美通
非甾体抗炎药物 (NSAID)	舒林酸
非甾体抗炎药物 (NSAID)	双氯芬酸
非甾体抗炎药物 (NSAID)	布洛芬

[0210]	活性剂类	活性剂
	类固醇	地塞米松
	类固醇	布地奈德
	类固醇	曲安奈德(Triamcinolone)
	类固醇	曲安奈德(Triamcinolone acetonide)
	类固醇	可的松
	类固醇	泼尼松
	类固醇	泼尼松龙
	类固醇	己曲安缩松
	类固醇	甲基泼尼松龙
	止痛剂	对乙酰氨基酚
	阿片类药物	
	局部麻醉药	
	抗抑郁剂	
	谷氨酸盐受体拮抗剂	
		腺苷
	神经肽	
	尿酸酶	
	弹性蛋白酶	

[0211] 活性剂的另外的实例包括但不限于：肽、寡肽、多肽、肽模拟物、多核苷酸、多核糖核苷酸、DNA、cDNA、ssDNA、RNA、dsRNA、微小RNA、RNAi、寡核苷酸、抗体、单链可变片段(scFv)、抗体片段、适体、细胞因子、干扰素、激素、酶、生长因子、检查点抑制剂、PD-1抑制剂、PD-L1抑制剂、CTLA4抑制剂、CD抗原、趋化因子、神经递质、离子通道抑制剂、G-蛋白偶联受体抑制剂、G-蛋白偶联受体激活剂、化学剂、放射致敏剂、辐射防护剂、放射性核素、治疗性小分子、类固醇、皮质类固醇、抗炎剂、免疫调节剂、补体结合肽或蛋白、肿瘤坏死因子抑制剂、肿瘤坏死因子激活剂、肿瘤坏死因子受体家族激动剂、肿瘤坏死因子受体拮抗剂、肿瘤坏死因子(TNF)可溶性受体或抗体、半胱天冬酶蛋白酶激活剂或抑制剂、NF- κ B、RIPK1和/或RIPK3抑制剂或激活剂(例如,通过Toll样受体(TLR)TLR-3和/或TLR-4、或T细胞受体(TCR)等)、死亡受体配体(例如,Fas配体)激活剂或抑制剂、TNF受体家族(例如,TNFR1、TNFR2、淋巴毒素 β 受体/TNFRSF3、OX40/TNFRSF4、CD40/TNFRSF5、Fas/TNFRSF6、诱饵受体3/TNFRSF6B、CD27/TNFRSF7、CD30/TNFRSF8、4-1BB/TNFRSF9、DR4(死亡受体4/TNFRSF10A)、DR5(死亡受体5/TNFRSF10B)、诱饵受体1/TNFRSF10C、诱饵受体2/TNFRSF10D、RANK(NF- κ B/TNFRSF11A的受体激活剂)、OPG(骨保护素/TNFRSF11B)、DR3(死亡受体3/TNFRSF25)、TWEAK受体/TNFRSF12A、TAC1/TNFRSF13B、BAFF-R(BAFF受体/TNFRSF13C)、HVEM(疱疹病毒进入介质/TNFRSF14)、神经生长因子受体/TNFRSF16、BCMA(B细胞成熟抗原/TNFRSF17)、GITR(糖皮质激素诱导的TNF受体/TNFRSF18)、TAJ(毒性和JNK诱导物/TNFRSF19)、RELT/TNFRSF19L、DR6(死亡受体6/TNFRSF21)、TNFRSF22、TNFRSF23、外异蛋白A2同种型受体/TNFRSF27、外异蛋白1、和止汗受体、TNF受体超家族配体(包括TNF α)、淋巴毒素- α 、肿瘤坏死因子膜形式、肿瘤坏死因子脱落形式、LIGHT、淋巴毒素 $\beta_2\alpha_1$ 异三聚体、OX-40配体、化合物1[PMID:24930776]、

CD40配体、Fas配体、TL1A、CD70、CD30配体、TRAF1、TRAF2、TRAF3、TRAIL、RANK配体、APRIL、BAFF、B和T淋巴细胞弱活化子、NGF、BDNF、神经营养素-3、神经营养素-4、TL6、外异蛋白A2、外异蛋白A1-a TIMP-3抑制剂、BCL-2家族抑制剂、纳威托克斯 (Aging Cell.15 (3) :428-435. (2016)) IAP干扰物、蛋白酶抑制剂、氨基糖、化学治疗剂 (无论是通过细胞凋亡或是非细胞凋亡途径作用) (Ricci等人Oncologist11 (4) :342-57 (2006))、细胞毒性化学药物、毒素、酪氨酸激酶抑制剂 (例如,甲磺酸伊马替尼)、质子、贝伐珠单抗 (抗血管剂)、埃罗替尼 (EGFR抑制剂)、抗感染剂、抗生素、抗病毒剂、抗真菌剂、氨基糖苷、非甾体抗炎药物 (NSAID)、他汀、纳米颗粒、脂质体、聚合物、生物聚合物、多糖、蛋白多糖、葡糖氨基葡聚糖、聚乙二醇、脂质、树枝状聚合物、脂肪酸、或Fc结构域或Fc区、或活性片段或其修饰。以上活性剂的任何组合可与本公开的肽或肽缀合物共同递送。另外,在一些实施方案中,其他共同疗法例如质子疗法或消融放射疗法可与本公开的肽或肽缀合物一起施用至有需要的受试者。在一些实施方案中,所述肽与活性剂共价或非共价连接,例如直接或经由接头连接。TNF阻断剂通过阻断TNF的活性来抑制免疫系统,TNF是一种可引起炎症并导致免疫系统疾病的物质,所述免疫系统疾病如克罗恩病、溃疡性结肠炎、类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、银屑病关节炎和斑块状银屑病。这类药物包括类克 (英夫利昔)、Enbrel (依那西普)、修美乐 (阿达木单抗)、赛妥珠单抗 (妥珠单抗) 和欣普尼 (戈利木单抗)。本文所公开的肽可用于归巢、分布至、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨,并且因此也可用于定位附接或融合的活性剂。此外,胱氨酸密集氯毒素肽可在细胞中内化 (Wiranowska,M.,Cancer Cell Int.,11:27 (2011))。因此,肽本身或活性剂肽缀合物或融合肽内化后的细胞内化、亚细胞定位和胞内运输可能是活性剂缀合或融合的功效的重要因素。(Ducry,L.,Antibody Drug Conjugates (2013);和Singh,S.K.,Pharm Res.,32 (11) :3541-3571 (2015))。适用于本文实施方案的示例性接头在下面进一步详细讨论。

[0212] 本公开的肽或肽-活性剂融合物还可与可起其他作用的其他部分复合、缀合或融合,如提供亲和力处理剂 (例如,生物素) 以从组织或流体中回收肽。例如,本公开的肽或肽-活性剂融合物也可与生物素复合、缀合或融合。除了延长半衰期外,生物素还可作为从组织或其他位置回收肽或肽-活性剂融合物的亲和力处理剂。在一些实施方案中,可使用可同时充当可检测标记和亲和力处理剂的荧光生物素缀合物。可商购的荧光生物素缀合物的非限制性实例包括Atto 425-生物素、Atto 488-生物素、Atto 520-生物素、Atto-550生物素、Atto 565-生物素、Atto 590-生物素、Atto 610-生物素、Atto 620-生物素、Atto 655-生物素、Atto 680-生物素、Atto 700-生物素、Atto 725-生物素、Atto 740-生物素、荧光素生物素、生物素-4-荧光素、生物素- (5-荧光素) 缀合物、以及生物素-B-藻红蛋白、Alexa fluor 488生物胞素、Alexa fluor 546、Alexa Fluor 549、荧光黄尸胺生物素-X、荧光黄生物胞素、俄勒冈绿488生物胞素、生物素-罗丹明以及四甲基罗丹明生物胞素。在一些其他实例中,缀合物可包括化学发光化合物、胶体金属、发光化合物、酶、放射性同位素和顺磁性标记。在一些实施方案中,本文所述的肽活性剂融合物可附接至另一分子。例如,肽序列还可附接至另一活性剂 (例如,小分子、肽、多肽、多核苷酸、抗体、适体、细胞因子、生长因子、神经递质、任何前述的活性片段或修饰、荧光团、放射性同位素、放射性核素螯合剂、酰基加合物、化学接头或糖等)。在一些实施方案中,肽可与活性剂融合或者共价或非共价连接。

[0213] 另外,超过一种肽序列可存在于特定肽上或与特定肽融合。可通过各种技术将肽

掺入生物分子中,例如通过化学转化,如形成共价键(如酰胺键),或通过固相或溶液相肽合成,或通过制备编码生物分子的核酸序列,其中核酸序列包括编码肽的子序列。子序列可以是编码生物分子的序列的补充,或者可取代编码生物分子的序列的子序列。

[0214] 可检测剂缀合物

[0215] 本文所述的是可与本发明的肽复合、缀合或融合的剂，用于在检测和追踪软骨病症或肾病症或两者中使用。如本文所述，应当理解，某些活性剂以非限制性示例性方式描述，用于诊断、辅助手术和治疗、预后和跟踪软骨和/或肾病症、疾病或损伤的进展或缓解。一种或多种此类可检测剂可单独复合、缀合或融合至本发明的肽或与本文所述的一种或多种活性剂组合复合、缀合或融合至本发明的肽。此外，一些可检测剂(例如，放射性核素、放射性同位素、放射致敏剂和光敏剂等)也可发挥治疗活性。肽可与用于成像、研究、治疗、治疗诊断学、药物、化学疗法、螯合疗法、靶向药物递送和放射疗法的剂复合、缀合或融合。所述剂可以是可检测剂。在一些实施方案中，本发明的肽与可检测剂(如金属、放射性同位素、染料、荧光团或可用于成像的其他合适材料)复合、缀合或融合。放射性同位素的非限制性实例包括 α 发射体、 β 发射体、正电子发射体和 γ 发射体。在一些实施方案中，金属或放射性同位素选自自由以下组成的组：铜、镉、铋、镅、铈、钴、钨、钐、铟、铅、镭、锰、钡、钍、钒、钇、锆、锘、铀和钼。在一些实施方案中，金属是铜、铋、铅、镭、锆、钐或钇。在一些实施方案中，放射性同位素是铜-225或铅-212。在一些实施方案中，荧光团是波长在650nm与4000nm之间的发射电磁辐射的荧光剂，这种发射用于检测这种剂。在一些实施方案中，荧光团是荧光剂、选自自由可用作本公开中的缀合分子(或如应用于每个类的分子)的荧光染料的非限制性实例组成的组、包括DyLight-680、DyLight-750、VivoTag-750、DyLight-800、IRDye-800、VivoTag-680、Cy5.5或吲哚菁绿(ICG类的染料)。在一些实施方案中，近红外染料包括花菁染料。在本公开中用作缀合分子的荧光染料的另外的非限制性实例包括：吖啶橙或黄、Alexa Fluor及其任何衍生物、7-放线菌素D、8-苯胺基萘-1-磺酸、ATTO染料及其任何衍生物、金胺-罗丹明着色剂及其任何衍生物、苯并蒽酮、bimane、9-10-双(苯乙炔基)蒽、5,12-双(苯乙炔基)蒽、双苯酰亚胺、脑彩虹、钙黄绿素、羧基荧光素及其任何衍生物、1-氯-9,10-双(苯乙炔基)蒽及其任何衍生物、DAPI、DiOC6、DyLight Fluor及其任何衍生物、黑附球菌酮、溴化乙锭、FlAsH-EDT2、Fluo染料及其任何衍生物、FluoProbe及其任何衍生物、荧光素及其任何衍生物、Fura及其任何衍生物、GelGreen及其任何衍生物、GelRed及其任何衍生物、荧光蛋白及其任何衍生物、m亚型蛋白及其任何衍生物(例如像mCherry)、hetamethine染料及其任何衍生物、hoeschst着色剂、亚氨基香豆素、印度黄、indo-1及其任何衍生物、laurdan、荧光黄及其任何衍生物、萤光素及其任何衍生物、萤光素酶及其任何衍生物、部花菁及其任何衍生物、nile染料及其任何衍生物、二萘嵌苯、焰红染料、phyco染料及其任何衍生物、碘化丙锭、荧光黄、罗丹明及其任何衍生物、ribogreen、RoGFP、红荧烯、二苯基乙烯及其任何其衍生物、磺酰罗丹明及其任何衍生物、SYBR及其任何衍生物、synapto-pHluorin、四苯基丁二烯、tetrasodium tris、德克萨斯红、达旦黄、TSQ、伞形酮、蒽酮紫、黄色荧光蛋白以及YOYO-1。其他合适的荧光染料包括但不限于：荧光素和荧光素染料(例如，异硫氰基荧光素或FITC、萘基荧光素、4',5'-二氯-2',7'-二甲氧基荧光素、6-羧基荧光素或FAM等)、羧花菁、部花菁、苯乙烯基染料、氧杂菁染料、藻红蛋白、赤藓红、曙红、罗丹明染料(例如四甲基羧基-罗丹明或TAMRA、羧基罗丹明6G、羧基-X-罗丹明(ROX)、丽丝胺罗丹明B、罗丹明

6G、罗丹明绿、罗丹明红、四甲基罗丹明 (TMR) 等)、香豆素和香豆素染料 (例如, 甲氧基香豆素、二烷基氨基香豆素、羟基香豆素、氨基甲基香豆素 (AMCA) 等)、俄勒冈绿染料 (例如, 俄勒冈绿488、俄勒冈绿500、俄勒冈绿514等)、德克萨斯红、德克萨斯红-X、光谱红、光谱绿、花菁染料 (例如, CY-3、Cy-5、CY-3.5、CY-5.5等)、ALEXA FLUOR染料 (例如, ALEXA FLUOR 350、ALEXA FLUOR 488、ALEXA FLUOR 532、ALEXA FLUOR 546、ALEXA FLUOR 568、ALEXA FLUOR 594、ALEXA FLUOR 633、ALEXA FLUOR 660、ALEXA FLUOR 680等)、BODIPY染料 (例如, BODIPY FL、BODIPY R6G、BODIPY TMR、BODIPY TR、BODIPY 530/550、BODIPY 558/568、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665等)、IR染料 (例如, IRD40、IRD 700、IRD 800等)、吖啶菁绿染料等。对于以上列出的每种荧光染料, 各种活化形式可用于缀合。另外的合适的可检测剂描述于PCT/US14/56177。放射性同位素的非限制性实例包括 α 发射体、 β 发射体、正电子发射体和 γ 发射体。在一些实施方案中, 金属或放射性同位素选自以下组成的组: 铜、镅、铋、镉、铯、钴、钨、钼、铟、铅、镭、镓、铊、钒、钐、铈、镨、铀和钷。在一些实施方案中, 金属是铜、铋、铅、镭、铈、钐或钷。在一些实施方案中, 放射性同位素是铜-225或铅-212。

[0216] 本公开的其他实施方案提供与放射致敏剂或光敏剂复合、缀合或融合的肽。放射致敏剂的实例包括但不限于:ABT-263、ABT-199、WEHI-539、紫杉醇、卡铂、顺铂、奥沙利铂、吉西他滨、依他硝唑、米索硝唑、替拉扎明、和核酸碱基衍生物(例如,卤化嘌呤或嘧啶,如5-氟脱氧尿苷)。光敏剂的实例包括但不限于:发光时产生热量的荧光分子或珠子,卟啉和卟啉衍生物(例如,二氢卟吩、菌绿素、异菌绿素、酞菁、和酞菁)、金属卟啉、金属酞菁、白芷素、chalcogenapyrrillium染料、叶绿素、香豆素、黄素和相关化合物如咯嗪和核黄素、富勒烯、脱镁叶绿酸、鲍光过敏素、青色素(例如,部花菁540)、脱镁叶绿素、sapphyrin、texaphyrin、红紫素、卟啉烯、吩噻嗪、亚甲蓝衍生物、萘二甲酰亚胺、尼罗蓝衍生物、醌、花醌(perylenequinone)(例如,金丝桃素、竹红菌素、和尾孢菌素)、补骨脂素、醌、类视黄醇、罗丹明、噻吩、verdin、氧杂蒽染料(例如,曙红、赤藓红、玫瑰红)、二聚和寡聚形式的卟啉、和前体药物如5-氨基乙酰丙酸。有利地,该方法允许同时使用治疗剂(例如,药物)和电磁能(例如,辐射或光)两者对患病细胞(例如,癌细胞)进行高度特异性靶向。在一些实施方案中,所述肽与剂共价或非共价连接,例如直接或经由接头连接。适用于本文实施方案的示例性接头在下面进一步详细讨论。

[0217] 本公开的肽或肽-剂复合物可单独施用,或与伴随诊断剂、治疗剂或成像剂(所述诊断剂或成像剂可与所述肽或肽-剂复合物连接,或者可用作与所述肽连接的单独的伴随诊断剂、治疗剂或成像剂,以与所述肽或肽-剂复合物结合使用),如化学剂、放射标记剂、放射致敏剂、荧光团、成像剂、诊断剂、蛋白、肽或小分子组合施用,其中所述剂旨在具有或具有诊断或成像作用。用于伴随诊断剂和伴随成像剂的剂可包括本文所述的诊断剂、治疗剂和成像剂,或与本公开一致的其他诊断剂、治疗剂和成像剂。诊断测试可用于增强治疗性产品,例如本文所公开的那些的使用。开发具有相应诊断测试的治疗性产品,如使用诊断成像(体内或体外)的测试,可帮助诊断、治疗、鉴定要治疗的患者群体,并增强相应疗法的治疗效果。检测治疗剂如所公开的那些肽和肽剂复合物还可有助于疗法的应用,并且对其进行测量以评定剂的安全性和生理效应,例如,测量治疗剂的生物利用度、摄取、分布和清除、代谢、药代动力学、定位,测量血液和组织中的浓度,评定治疗窗、范围和优化等。因此,可以在

此类剂(包括本文所公开的肽或肽-剂复合物)的治疗、成像和诊断应用的情形中使用系统和方法。测试还有助于治疗性产品的开发,以获得FDA用来进行监管决定的数据。例如,这种测试可确定适当的治疗亚群,或确定由于严重副作用的风险增加而不应接受特定治疗的人群,使得有可能通过确定最有可能做出应答的患者或处于不同程度的特定副作用风险中的患者来个性化或定制药物疗法。因此,在一些实施方案中,本公开包括联合开发治疗性产品和诊断装置(用于检测肽或肽剂复合物本身,或用于检测伴随诊断剂、治疗剂或成像剂,无论所述诊断剂、治疗剂或成像剂是否连接至所述肽或肽-剂复合物,或用作与所述肽连接的单独的伴随诊断剂、治疗剂或成像剂,以与所述肽或肽-剂复合物结合使用),所述治疗性产品和诊断装置结合使用,安全有效地使用作为治疗性产品的肽或肽-剂复合物。伴随装置的非限制性实例包括外科手术器械,如手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜(exoscope)、内窥镜或外科手术机器人,以及用于生物学诊断或成像或结合放射学的装置,包括X射线放射摄影成像技术、磁共振成像(MRI)、医学超声检查或超声、内窥镜检查、弹性成像、触觉成像、热成像、医学摄影以及核医学功能成像技术,如正电子发射断层显像(PET)和单光子发射计算机断层显像(SPECT)。伴随诊断剂、治疗剂、成像剂和装置可包括离体进行的测试,包括检测来自在将伴随诊断剂施用至受试者后取出的组织或细胞的信号,或者在将组织或细胞从受试者中取出后将伴随诊断剂、治疗剂或伴随成像剂直接施加至组织或细胞,然后再检测信号。用于离体检测的装置的实例包括荧光显微镜、流式细胞仪等。此外,用于这样在伴随诊断中使用的系统和装置包括外科手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜、内窥镜或外科手术机器人,包括KINEVO系统(例如,KINEVO 900)、QEVO系统、CONVIVO系统、OMPI PENTERO系统(例如,PENTERO 900、PENTERO 800)、INFRARED800系统、FLOW 800系统、YELLOW 560系统、BLUE 400系统、OMPI LUMERIA系统OMPI Vario系统(例如,OMPI Vario和OMPI VARIO 700)、OMPI Pico系统、TREMOR 3DHD系统(以及来自Carl Zeiss A/G的任何其他示例性外科手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜、内窥镜和外科手术机器人系统);PROVido系统、ARvido系统、GLOW 800系统、Leica M530系统(例如,Leica M530 OHX、Leica M530 OH6)、Leica M720系统(例如,Leica M720 OHX5)、Leica M525系统(例如,Leica M525 F50、Leica M525 F40、Leica M525 F20、Leica M525 OH4)、Leica HD C100系统、Leica FL系统(例如,Leica FL560、Leica FL400、Leica FL800)、Leica DI C500、Leica ULT500、Leica可旋转分束器、Leica M651 MSD、LIGHTENING、Leica TCS和SP8系统(例如,Leica TCS SP8、SP8 FALCON、SP8 DIVE、Leica TCS SP8 STED、Leica TCS SP8 DLS、Leica TCS SP8 X、Leica TCS SP8CARS、Leica TCS SPE)、Leica HyD、Leica HCS A、Leica DCM8(以及来自Leica Microsystems或Leica Biosystems的任何其他示例性外科手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜、内窥镜和外科手术机器人系统);Haag-Streit 5-1000和Haag-Streit 3-1000系统(以及来自Haag-Streit A/G的任何其他示例性外科手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜、内窥镜和外科手术机器人系统);Intuitive Surgical da Vinci外科手术机器人系统(以及来自Intuitive Surgical, Inc.的任何其他示例性外科手术显微镜、共聚焦显微镜、荧光镜、外窥镜、内窥镜和外科手术机器人系统)。

[0218] 接头

[0219] 根据本公开的归巢、靶向、迁移至、被保留于、积聚于和/或结合至、或被导向至软骨的肽可通过接头,或直接在不存在接头的情况下附接至另一部分(例如,活性剂),如小分

子、第二肽、蛋白、抗体、抗体片段、适体、多肽、多核苷酸、荧光团、放射性同位素、放射性核素螯合剂、聚合物、生物聚合物、脂肪酸、酰基加合物、化学接头或糖、或本文所述的其他活性剂。

[0220] 肽可通过共价附接直接附接至另一分子。例如，肽附接至较大多肽或肽分子的氨基酸序列的末端，或附接至侧链，如赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬氨酸、非天然氨基酸残基或谷氨酸残基的侧链。所述附接可经由酰胺键、酯键、醚键、氨基甲酸酯键、碳-氮键、三唑、大环、脂肪键、腙键、碳-碳单双或三键、二硫键或硫醚键。在一些实施方案中，所公开的一种或多种肽本身的相似区（如氨基酸序列的末端、氨基酸侧链（如赖氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬氨酸、非天然氨基酸残基或谷氨酸残基的侧链），经由酰胺键、酯键、醚键、氨基甲酸酯键、碳-氮键、三唑、大环、脂肪键、腙键、碳-碳单双或三键、二硫键或硫醚键，或如本文所述的接头）可用于连接其他的分子。

[0221] 经由接头的附接可涉及在另一分子与肽之间掺入接头部分。所述肽和另一分子两者可共价附接至接头。所述接头可以是可切割的、不稳定的、非可切割的、稳定的自我牺牲、亲水的、或疏水的。如本文所用，术语“非可切割的”或“稳定的”（例如与酰胺、环状或氨基甲酸酯接头或如本文所述的其他的结合使用）通常由技术人员用于区分相对稳定的结构与更不稳定或“可切割的”（例如，与可切割的接头结合使用，所述接头可通过酶、蛋白酶、自我牺牲、pH、还原、水解、某些生理条件或如本文所述其他方式在结构上解离或切割）。应当理解，与“可切割的”接头相比，“非可切割的”或“稳定的”接头提供抗切割或其他解离的稳定性，并且该术语在任何条件下都不旨在被认为是绝对非可切割或非解离的结构。因此，如本文所用，“非可切割的”接头还被称为“稳定的”接头。接头可具有至少两个官能团（其中一个与肽键合，另一个与另一个分子键合），以及两个官能团之间的连接部分。

[0222] 用于附接的官能团的非限制性实例可包括能够形成酰胺键、酯键、醚键、碳酸酯键、氨基甲酸酯键或硫醚键的官能团。能够形成此类键的官能团的非限制性实例可包括：氨基基团；羧基基团；羟基基团；醛基基团；叠氮化物基团；炔和烯炔基团；酮；酰肼；酰基卤如酰基氟、酰基氯、酰基溴和酰基碘；酸酐，包括对称的、混合的和环状的酸酐；碳酸酯；键合至离去基团的羰基官能团如氰基、琥珀酰亚胺基和N-羟基琥珀酰亚胺基；羟基基团；巯基基团；和具有例如，烷基、烯基、炔基、烯丙基或苄基离去基团的分子，如卤化物、甲磺酸酯、甲苯磺酸酯、三氟甲磺酸酯、环氧化物、磷酸酯、硫酸酯和苯磺酸酯。

[0223] 连接部分的非限制性实例可包括亚烷基、亚烯基、亚炔基、聚醚如聚乙二醇（PEG）、羟基羧酸、聚酯、聚酰胺、聚氨基酸、多肽、可切割的肽、缬氨酸-瓜氨酸、氨基苄基氨基甲酸酯、D-氨基酸和多胺，其中任何一个是被取代的或被任何数目的取代基取代，所述取代基如卤素、羟基基团、巯基基团、氨基基团、硝基基团、亚硝基基团、氰基基团、叠氮基基团、亚砷基团、砷基团、磺酰胺基团、羧基基团、醛基基团、亚胺基团、烷基基团、卤代-烷基基团、烯基基团、卤代-烯基基团、炔基基团、卤代-炔基基团、烷氧基基团、芳基基团、芳氧基基团、芳烷基基团、芳基烷氧基基团、杂环基基团、酰基基团、酰氧基基团、氨基甲酸酯基团、酰胺基团、氨基甲酸酯基团、环氧化物和酯基基团。

[0224] 经由接头复合、缀合或融合的肽和药物用式肽-A-B-C-药物描述，其中所述接头是A-B-C。A可以是稳定的酰胺键，是肽和接头上的胺，并且可经由四氟苯基（TFP）酯或NHS酯实现。B可以是 $(-\text{CH}_2-)_x$ -或短PEG $(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_x$ （x是1-10），并且C可以是药物上的羟基或羧酸

的酯键。在一些实施方案中,C可以指接头的“可切割的”或“稳定的”部分。在其他实施方案中,A也可以是“可切割的”部分。在一些实施方案中,A可以是经由马来酰亚胺或溴乙酰胺、三唑、肟或氧杂咪啉的酰胺、氨基甲酸酯、硫醚。切割的活性剂或药物可在切割之前保留所述活性剂的化学结构,或者可由于切割而被修饰。此外,取决于肽-药物缀合物的所需的治疗特性,这种活性剂在与肽连接时可以是活性的,在切割后保持活性,或在与肽连接时变得失活(是失活的),或者它可在切割后被激活。

[0225] 在一些实施方案中,肽缀合物具有稳定的接头。可重组表达或化学合成本公开的肽。所述肽可经由稳定的接头(如酰胺键或氨基甲酸酯键)复合、缀合或融合至可检测剂或活性剂。基于化学或者基于亚硫酰氯或氯化磷的生物缀合化学,使用标准的1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)或二环己基碳二亚胺(DCC),可将肽经由稳定的接头(如酰胺键)复合、缀合或融合至可检测剂或活性剂。稳定的接头可在延长的时间段(例如,小时、天或周)中在缓冲液中被切割或不被切割。稳定的接头可在延长的时间段(例如,小时、天或周)中在体液如血浆或滑液中被切割或不被切割。在暴露于可存在于细胞(例如,巨噬细胞)、细胞区室(例如,内体和溶酶体)、身体的发炎区域(例如,发炎的关节)、组织或身体区室中的酶、活性氧物质、其他化学物质或酶之后,稳定的接头可被或可不被切割。稳定的接头可通过未知的机制切割。稳定的接头可在体内被切割或不被切割,但在肽缀合后保持是活性剂。

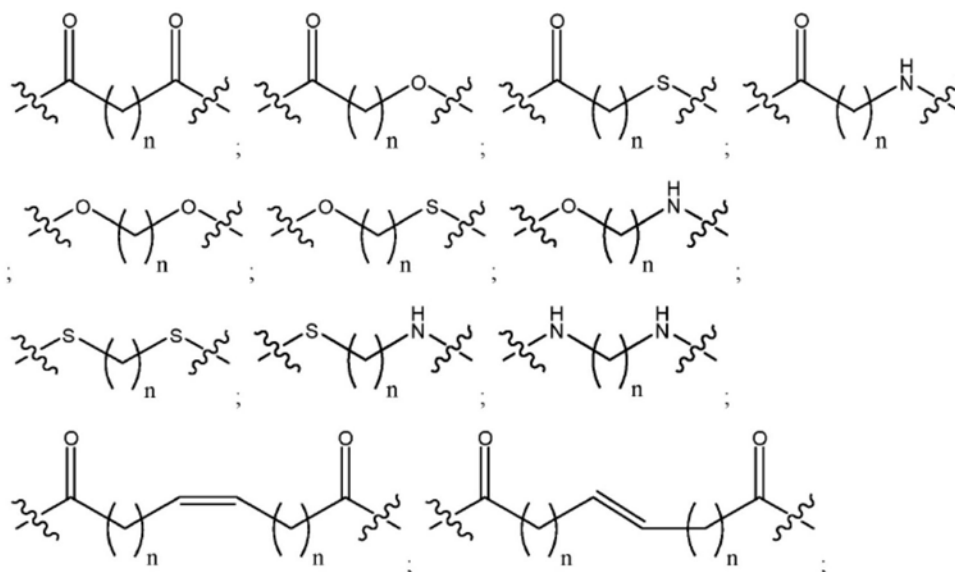
[0226] 经由接头复合、缀合或融合的肽和药物可用式肽-A-B-C-药物描述,其中所述接头是A-B-C。A可以是稳定的酰胺键,其例如通过使肽上的胺与含有四氟苯基(TFP)酯或NHS酯的接头进行反应而形成。A还可以是稳定的氨基甲酸酯接头,其例如通过使肽上的胺与咪唑氨基甲酸酯活性中间体(通过CDI与接头上的羟基反应形成)进行反应而形成。A还可以是稳定的仲胺键,其例如通过肽上的胺与接头上的醛或酮基团的还原烷基化而形成。A还可以是使用接头中的马来酰亚胺或溴乙酰胺与肽中的硫醇形成的稳定的硫醚接头、三唑接头、稳定的肟接头或氧杂咪啉接头。B可以是 $(-CH_2-)_x$ -或短PEG $(-CH_2CH_2O-)_x$ (x是0-20)或其他间隔子或无间隔子。C可以是在药物上的胺或羧酸形成的酰胺键、在接头上的马来酰亚胺和药物上的硫氢基之间形成的硫醚、仲胺或叔胺、氨基甲酸酯或其他稳定的键。可使用“Current A DC Linker Chemistry,”Jain等人,Pharm Res,2015DOI 10.1007/s11095-015-1657-7中描述的任何接头化学。

[0227] 可将所得的肽缀合物经皮下、静脉内、口服施用至人或动物、或直接注射到关节内以治疗疾病。所述肽不是经由靶向机制从可检测剂或活性剂特异性切割的。所述肽可通过如分解代谢等机制来降解,释放出经修饰或未经修饰的其天然形式的药物(Antibody-Drug Conjugates:Design,Formulation,and Physicochemical Stability,Singh,Luisi,and Pak.Pharm Res (2015) 32:3541-3571)。在仍然完整,或者部分或完全地被降解、代谢或分解代谢的同时,所述肽药物缀合物发挥其药理学活性。

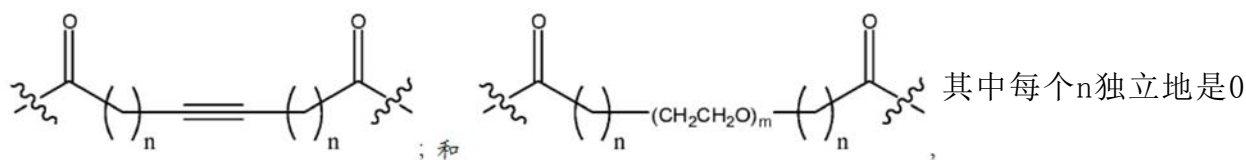
[0228] 在一些实施方案中,肽缀合物可具有可切割的接头。在一些实施方案中,肽和药物可经由接头复合、缀合或融合并且可用式肽-A-B-C-药物描述,其中所述接头是A-B-C。在一些实施方案中,A可以是稳定的酰胺键,其例如通过使肽上的胺与含有四氟苯基(TFP)酯或NHS酯的接头进行反应而形成。在某些实施方案中,A还可以是稳定的氨基甲酸酯接头,其通过使肽上的胺与咪唑氨基甲酸酯活性中间体(通过CDI与接头上的羟基反应形成)进行反应

而形成。在其他实施方案中,A还可以是稳定的仲胺键,其例如通过肽上的胺与接头上的醛或酮基团的还原烷基化而形成。在一些实施方案中,A还可以是使用接头中的马来酰亚胺或溴乙酰胺与肽中的硫醇形成的稳定的硫醚接头、三唑接头、稳定的脞接头或氧杂吡啶接头。B可以是 $(-\text{CH}_2-)_x$ -或短PEG $(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_x$ (x 是0-20)或其他间隔子或无间隔子。C可以是药物上的羟基或羧酸的酯键,或者设计用于水解切割的碳酸酯、脞或酰脞。可通过改变键周围的局部环境,包括碳长度 $(-\text{CH}_2-)_x$ 、空间位阻(包括相邻的侧基团如甲基、乙基、环状的空间位阻)、亲水性或疏水性来改变切割的水解速率。在一些实施方案中,肽缀合物可具有直链或环状酯键,其可包括或不包括侧链,如甲基或乙基基团。由于空间位阻或疏水性/亲水性效应,直链酯键比环状酯更易于切割(如通过水解、酶如酯酶或其他化学反应)。同样,直链酯键上的侧链如甲基或乙基基团可任选地使该键比没有侧链时更不易于切割。在一些实施方案中,水解速率可受局部pH(如在身体的某些区室中或细胞(如内体和溶酶体)的或患病组织的更低pH)的影响。在一些实施方案中,C还可以是pH敏感基团,如脞或脞键。在其他实施方案中,C可以是设计为通过还原释放的二硫键,如谷胱甘肽。在其他实施方案中,(或A-B-C)可以是用于酶可切割的肽键设计。任选地,可包括自我牺牲基团(如pABC)以在切割后引起游离的未经修饰的药物的释放(Antibody-Drug Conjugates:Design,Formulation, and Physicochemical Stability,Singh,Luisi,and Pak.Pharm Res (2015) 32:3541-3571)。所述接头可被酶如酯酶、基质金属蛋白酶、组织蛋白酶(如组织蛋白酶B)、葡萄糖醛酸酶、蛋白酶或凝血酶切割。可替代地,设计用于切割的键可在A处而不是在C处,并且C可以是稳定的键或可切割的键。可替代的设计可以是在A和C处具有稳定的接头(如酰胺或氨基甲酸酯)并且在B中具有可切割的接头(如二硫键)。还原速率可通过局部效应(如来自甲基或乙基基团的空间位阻)或者调节疏水性/亲水性来调节。在一些实施方案中,肽缀合物可具有酯羰基键、长烃接头或氨基甲酸酯接头,它们各自可包括亲水基团,如醇、酸或醚,或包括烃侧链或其他调节切割速率的部分。例如,在酯羰基附近,亲水基团如醇、酸或醚的水解速率可更快。在另一个实例中,作为侧链或作为较长的烃接头存在的疏水基团可减慢酯的切割速率。同样,氨基甲酸酯基团的切割也可通过位阻、疏水性等来调节。在另一个实例中,使用较不稳定的连接基团,如氨基甲酸酯而不是酯,可减慢接头的切割速率。

[0229] 接头的非限制性实例包括:



[0230]



至约1,000;1至约1,000;0至约500;1至约500;0至约250;1至约250;0至约200;1至约200;0至约150;1至约150;0至约100;1至约100;0至约50;1至约50;0至约40;1至约40;0至约30;1至约30;0至约25;1至约25;0至约20;1至约20;0至约15;1至约15;0至约10;1至约10;0至约5;或1至约5。在一些实施方案中,每个n独立地是0、约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约13、约14、约15、约16、约17、约18、约19、约20、约21、约22、约23、约24、约25、约26、约27、约28、约29、约30、约31、约32、约33、约34、约35、约36、约37、约38、约39、约40、约41、约42、约43、约44、约45、约46、约47、约48、约49、或约50。在一些实施方案中,m是1至约1,000;1至约500;1至约250;1至约200;1至约150;1至约100;1至约50;1至约40;1至约30;1至约25;1至约20;1至约15;1至约10;或1至约5。在一些实施方案中,m是0、约1、约2、约3、约4、约5、约6、约7、约8、约9、约10、约11、约12、约13、约14、约15、约16、约17、约18、约19、约20、约21、约22、约23、约24、约25、约26、约27、约28、约29、约30、约31、约32、约33、约34、约35、约36、约37、约38、约39、约40、约41、约42、约43、约44、约45、约46、约47、约48、约49、或约50。

[0231] 在一些情况下,接头可以是琥珀酸酯接头,并且药物可经由酯键或酰胺键与肽附接,药物与肽之间具有两个亚甲基碳。在其他情况下,接头可以是具有羟基基团和羧酸(如羟基己酸或乳酸)的任何接头。

[0232] 所述接头可以是可切割的或稳定的接头。使用可切割的接头允许例如在靶向软骨后从肽中释放复合、缀合或融合的部分(例如治疗剂)。在一些情况下,所述接头是酶可切割的,例如缬氨酸-瓜氨酸接头。在一些实施方案中,所述接头含有自我牺牲部分。在其他实施方案中,所述接头包括特异性蛋白酶的一个或多个切割位点,如基质金属蛋白酶(MMP)、凝血酶或组织蛋白酶的切割位点。可替代地或组合地,所述接头可通过其他机制,如经由pH、还原或水解切割。就从肽释放活性剂而言,水解不稳定的接头(在本文所述的其他可切割的接头之中)可能是有利的。例如,与肽处于缀合形式的活性剂可能不具有活性,但在靶向软骨后从缀合物释放后,所述活性剂是活性的。

[0233] 可调节接头的水解速率。例如,与具有靠近酯羰基的庞大基团的接头水解相比,具有无位阻的酯的接头的水解速率更快。庞大基团可以是甲基基团、乙基基团、苯基基团、环或异丙基基团,或任何提供立体位阻效应的基团。在一些情况下,立体位阻效应可由药物本身提供,如当经由其羧酸复合、缀合或融合时通过酮咯酸提供。可根据缀合物在软骨中的驻留时间来调节接头的水解速率。例如,当肽相对快速地从软骨中清除时,可调节接头以快速水解。相反,例如,当肽在软骨中具有更长的停留时间时,较慢的水解速率可允许活性剂的延长的递送。当所述肽用于将药物递送至软骨时,这可能是重要的。“Programmed hydrolysis in designing paclitaxel prodrug for nanocarrier assembly” Sci Rep 2015, 5, 12023Fu等人,提供了修改的水解速率的实例。

[0234] 肽稳定性

[0235] 本公开的肽在多种生物条件下(以及在制造、处理、储存期间)和其他条件下(在液

态或干燥状态下)可以是稳定的。另外,本公开的肽可抵抗通过免疫系统进行肽加工所需的酶切割。例如,SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263的任何肽可展现出对还原剂、蛋白酶、氧化条件或酸性条件的抗性。

[0236] 在一些情况下,生物分子(如肽和蛋白)可提供治疗功能,但是由体内环境引起的不稳定性降低或阻碍了这些治疗功能。(Moroz等人,Adv Drug Deliv Rev 101:108-21 (2016),Mitragotri等人,Nat Rev Drug Discov 13(9):655-72 (2014);Bruno等人,Ther Deliv(11):1443-67 (2013),Sinha等人,Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.24(1):63-92 (2007);Hamman等人,BioDrugs 19(3):165-77 (2005))。肽降解可以是许多过程的结果,这些过程涉及水解途径、肽氧化(如甲硫氨酸(Met)残基的氧化)、天冬酰胺(Asn)和谷氨酰胺(Gln)残基的脱酰胺,以及相邻天冬酰胺(Asp)残基的异构化和水解。(Manning等人,Pharmaceutical Research,第27卷,第4期(2010))。紧接Asn或Gln残基后的氨基酸也可影响脱酰胺的速率,而:Asn-Gly、Asn-Ser、Asn-His和Gln-Gly更有可能经历脱酰胺。另外,与氨基酸(如Asp)相邻的肽键可与氨基酸配对(如Asp-Gly、Asp-Ser、Asp-Tyr和Asp-Pro)经历水解,这些配对更有可能经历水解。氨基酸残基(如Met)的氧化可形成亚砷种类。对于任何给定的肽或蛋白序列,特定的降解反应速率可变化。

[0237] 此外,肽的分子结构内的微环境、溶剂可及性和每个残基的构象稳定性可影响肽降解的可能性。因此,通过修饰肽序列以减少此类降解事件的发生,相比于未经修饰的肽或肽-药物缀合物,经修饰的肽或肽缀合物可具有增加的有益特性,如改善的治疗功效、增加的安全性特征,以及制造和开发成本更低。可防止肽衰变的关键配制考虑可包括赋形剂的使用,在所需的pH下配制以及在特定条件(例如,温度、氧气、光照、固态或液态,和容器赋形剂材料)下储存。为了避免降解,肽残基可被增加稳定性的氨基酸取代,这可产生更有效且持久的治疗性肽。

[0238] 关于体内稳定性,胃肠道可含有低pH(例如,pH为约1)区、还原环境或可降解肽和蛋白的富含蛋白酶的环境。身体其他区域(如口、眼睛、肺、鼻腔、关节、皮肤、阴道、粘膜和血清)中的蛋白水解活性也可以是功能活性肽和多肽递送的障碍。另外,血清中肽的半衰期可非常短,部分归因于蛋白酶,使得当施用治疗性和安全的给药方案时,肽可被过快降解而不具有持久的治疗效果。同样,细胞区室(如溶酶体)中的蛋白水解活性以及溶酶体和细胞溶质中的还原活性可降解肽和蛋白质,使得它们可能不能对细胞内靶标提供治疗功能。因此,对还原剂、蛋白酶和低pH具有抗性的肽可能能够提供增强的治疗效果或增强共同配制或复合、缀合或融合的活性剂在体内的治疗功效。

[0239] 另外,为了靶向身体的某些区域(例如,胃肠道中的疾病,如结肠癌、肠易激病症、感染、代谢性病症和便秘),口服递送药物是所希望的,尽管通过这种施用方法对于功能活性肽和多肽的递送存在障碍。例如,通过提供与肠胃外递送相比更方便患者服用的剂型,口服递送药物可增加顺应性。口服递送可用于具有大的治疗窗的治疗方案。因此,对还原剂、蛋白酶和低pH具有抗性的肽可允许口服递送肽而不会使其治疗功能无效。

[0240] 肽对还原剂的抗性。本公开的肽可含有一个或多个半胱氨酸,半胱氨酸可参与二硫桥,这些二硫桥在保持肽的折叠状态方面是不可或缺的。将肽暴露于具有还原剂的生物

环境可导致肽的解折叠以及功能性和生物活性的丧失。例如,谷胱甘肽(GSH)是可存在于身体的许多区域和细胞中的还原剂,并可还原二硫键。作为另一个实例,肽可在口服施用后在穿过胃肠上皮细胞运输肽期间,在细胞内化后被还原,肽可在暴露于胃肠道的多个部分后被还原。胃肠道可以是还原环境,由于二硫键的还原,其可抑制具有二硫键的治疗性分子具有最佳治疗功效的能力。肽也可在进入细胞后被还原,如在通过内体或溶酶体内化或者进入细胞溶质或其他细胞区室后被还原。二硫键的还原和肽的解折叠可导致功能性丧失或影响关键药代动力学参数(如生物利用度、峰值血浆浓度、生物活性和半衰期)。二硫键的还原还可导致肽对随后蛋白酶的降解的敏感性增加,导致施用后完整肽的快速丧失。在一些实施方案中,与更易于被还原的肽相比,对还原具有抗性的肽可保持完整并且可在身体的多个区室和细胞中赋予更长时间的功能活性。

[0241] 在某些实施方案中,可分析本公开的肽对还原剂的抗性特征以鉴定稳定的肽。在一些实施方案中,在暴露于不同摩尔浓度(如0.00001M-0.0001M、0.0001M-0.001M、0.001M-0.01M、0.01M-0.05M、0.05M-0.1M)的还原剂超过15分钟或更长长时间后,本公开的肽可保持完整。在一些实施方案中,用于测定肽稳定性的还原剂可以是二硫苏糖醇(DTT)、三(2-羧乙基)膦HCl (TCEP)、2-巯基乙醇、(还原的)谷胱甘肽(GSH)或它们的任何组合。在一些实施方案中,在暴露于还原剂后,至少5%-10%、至少10%-20%、至少20%-30%、至少30%-40%、至少40%-50%、至少50%-60%、至少60%-70%、至少70%-80%、至少80%-90%、或至少90%-100%的肽保持完整。

[0242] 肽对蛋白酶的抗性。本公开的肽的稳定性可通过对蛋白酶的降解的抗性来测定。蛋白酶,也称为肽酶或胰酶,可以通过破坏相邻氨基酸之间的键来降解肽和蛋白的酶。对具有靶向特定氨基酸的特异性的蛋白酶家族可包括丝氨酸蛋白酶、半胱氨酸蛋白酶、苏氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶、谷氨酸蛋白酶、酯酶、血清蛋白酶和天冬酰胺蛋白酶。另外,金属蛋白酶、基质金属蛋白酶、弹性蛋白酶、羧肽酶、细胞色素P450酶和组织蛋白酶也可消化肽和蛋白。蛋白酶可高浓度存在于血液、粘膜、肺、皮肤、胃肠道、口、鼻、眼睛和细胞的区室中。蛋白酶的误调节也可存在于多种疾病中,如类风湿性关节炎和其他免疫病症。蛋白酶的降解可降低治疗性分子的生物利用度、生物分布、半衰期和生物活性,使得它们不能发挥其治疗功能。在一些实施方案中,对蛋白酶具有抗性的肽可在体内合理耐受的浓度下更好地提供治疗活性。

[0243] 在一些实施方案中,本公开的肽可抵抗任何类别的蛋白酶的降解。在某些实施方案中,本公开的肽抵抗胃蛋白酶(其可在胃中发现)、胰蛋白酶(其可在十二指肠中发现)、血清蛋白酶或它们的任何组合的降解。在某些实施方案中,本公开的肽可抵抗肺蛋白酶(例如,丝氨酸、半胱氨酸、和天冬氨酸蛋白酶、金属蛋白酶、嗜中性粒细胞弹性蛋白酶、 α -1抗胰蛋白酶、分泌型白细胞蛋白酶抑制剂、弹性蛋白酶抑制剂),或它们的任何组合的降解。在一些实施方案中,用于测定肽稳定性的蛋白酶可以是胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶或它们的任何组合。在一些实施方案中,在暴露于蛋白酶后,至少5%-10%、至少10%-20%、至少20%-30%、至少30%-40%、至少40%-50%、至少50%-60%、至少60%-70%、至少70%-80%、至少80%-90%、或至少90%-100%的肽保持完整。SEQ ID NO:150和SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽可具有特定的结构质量,这使得它们对蛋白酶降解更具

抗性。例如,SEQ ID NO:150和SEQ ID NO:149的肽展现出如前所述的“希金斯”拓扑结构,该结构可能与对蛋白酶的抗性和化学降解相关。

[0244] 酸性条件下的肽稳定性。本公开的肽可在酸性的生物环境中施用。例如,在口服施用后,肽可在胃和胃肠(GI)道的胃液中经历酸性环境条件。胃的pH可在约1-4的范围内,并且胃肠道的pH范围为从酸性至正常的生理pH(从胃肠道上部到结肠下降)。此外,阴道、晚期内体和溶酶体也可具有酸性pH值,如小于pH 7。这些酸性条件可导致肽和蛋白质变性为解折叠状态。肽和蛋白质的解折叠可导致对随后其他酶的消化的敏感性增加以及肽的生物活性丧失。

[0245] 在某些实施方案中,本公开的肽可在酸性条件下和在模拟酸性条件的缓冲液中抵抗变性和降解。在某些实施方案中,本公开的肽可抵抗缓冲液中的变性或降解,该缓冲液的pH小于1、pH小于2、pH小于3、pH小于4、pH小于5、pH小于6、pH小于7、或pH小于8。在一些实施方案中,本公开的肽在pH为1-3下保持完整。在某些实施方案中,在暴露于缓冲液(其pH小于1、pH小于2、pH小于3、pH小于4、pH小于5、pH小于6、pH小于7、或pH小于8)后,至少5%-10%、至少10%-20%、至少20%-30%、至少30%-40%、至少40%-50%、至少50%-60%、至少60%-70%、至少70%-80%、至少80%-90%、或至少90%-100%的肽保持完整。在其他实施方案中,在暴露于pH为1-3的缓冲液后,至少5%-10%、至少10%-20%、至少20%-30%、至少30%-40%、至少40%-50%、至少50%-60%、至少60%-70%、至少70%-80%、至少80%-90%、或至少90%-100%的肽保持完整。在其他实施方案中,本公开的肽可抵抗在模拟胃液(pH 1-2)中的变性或降解。在一些实施方案中,在暴露于模拟胃液后,至少5%-10%、至少10%-20%、至少20%-30%、至少30%-40%、至少40%-50%、至少50%-60%、至少60%-70%、至少70%-80%、至少80%-90%、或至少90%-100%的肽保持完整。在一些实施方案中,可使用低pH溶液(如模拟胃液或柠檬酸盐缓冲液)来测定肽稳定性。

[0246] 高温下的肽稳定性。本公开的肽可在高温的生物环境中施用。例如,在口服施用后,肽可在体内经历高温。体温范围可为36℃至40℃。高温可导致肽和蛋白变性为解折叠状态。肽和蛋白质的解折叠可导致对随后其他酶的消化的敏感性增加以及肽的生物活性丧失。在一些实施方案中,本公开的肽可在25℃至100℃的温度下保持完整。高温可导致肽的更快降解。在更高温度下的稳定性可允许肽在热带环境或冷藏受限的区域中储存。在某些实施方案中,在暴露于25℃6个月至5年后,5%-100%的肽可保持完整。在暴露于70℃15分钟至1小时后,5%-100%的肽可保持完整。在暴露于100℃15分钟至1小时后,5%-100%的肽可保持完整。在其他实施方案中,在暴露于25℃6个月至5年后,至少5%-10%、至少10%-20%、至少20%-30%、至少30%-40%、至少40%-50%、至少50%-60%、至少60%-70%、至少70%-80%、至少80%-90%、或至少90%-100%的肽保持完整。在其他实施方案中,在暴露于70℃15分钟至1小时后,至少5%-10%、至少10%-20%、至少20%-30%、至少30%-40%、至少40%-50%、至少50%-60%、至少60%-70%、至少70%-80%、至少80%-90%、或至少90%-100%的肽保持完整。在其他实施方案中,在暴露于100℃15分钟至1小时后,至少5%-10%、至少10%-20%、至少20%-30%、至少30%-40%、至少40%-50%、至少50%-60%、至少60%-70%、至少70%-80%、至少80%-90%、或至少90%-100%的肽保持完整。

[0247] 肽的药代动力学

[0248] 本公开的任何肽的药代动力学可在经由不同施用途径施用肽后来测定。例如,本

公开的肽的药代动力学参数可在静脉内、皮下、肌肉内、直肠、气溶胶、肠胃外、眼、肺、经皮、阴道、视神经、鼻腔、口服、舌下、吸入、皮肤、鞘内、鼻内、关节内、腹膜、经颊、滑膜或局部施用后来定量。可通过使用追踪剂(如放射标记或荧光团)来分析本公开的肽。例如,本公开的放射标记的肽可经由多种施用途径进行施用。可使用包括HPLC、荧光检测技术(TECAN定量、流式细胞术、iVIS)或液体闪烁计数在内的一系列方法来测定多种生物样品(如血浆、尿液、粪便、任何器官、皮肤、肌肉和其他组织)中的肽浓度或剂量恢复。

[0249] 本文所述的方法和组合物可涉及经由任何途径向受试者施用肽的药代动力学。可使用方法和模型描述药代动力学,例如房室模型或非房室方法。房室模型包含但不限于单房室模型、二房室模型、多房室模型等。模型可分为不同房室并且可通过相应方案进行描述。例如,一种方案是吸收、分布、代谢和排泄(ADME)方案。再例如,另一种方案是释放、吸收、分布、代谢和排泄(LADME)方案。在一些方面,代谢和排泄可被归类为一个房室,被称为消除房室。例如,释放可包括从递送系统中释放组合物的活性部分,吸收包括由受试者吸收组合物的活性部分,分布包括组合物通过血浆分布至不同组织,代谢包括组合物的代谢或失活,而最后排泄包括组合物或组合物的代谢产物的排泄或消除。向受试者静脉内施用的组合物可经受多相药代动力学特征,其包括但不限于组织分布和代谢/排泄的方面。这样,组合物的血浆或血清浓度的减少通常是双相的,包括例如 α 相位和 β 相位,偶尔观察到 γ 、 δ 或其他相位。

[0250] 药代动力学包括测定至少一个与向受试者施用肽相关的参数。在一些方面,参数至少包括剂量(D)、给药间隔(τ)、曲线下面积(AUC)、最大浓度($C_{\max}$)、在施用后续剂量之前达到的最小浓度($C_{\min}$)、最短时间($T_{\min}$)、达到 $C_{\max}$ 的最大时间($T_{\max}$)、分布体积(V_d)、稳态分布体积(V_{ss})、时刻0处回推的浓度(C_0)、稳态浓度(C_{ss})、消除速率常数(k_e)、输注速率(k_{in})、清除率(CL)、生物利用度(f)、波动(%PTF)和消除半衰期($t_{1/2}$)。

[0251] 在某些实施方案中,SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个的肽在口服施用后展现出最佳的药代动力学参数。在其他实施方案中,SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个的肽在以下任何施用途径后展现出最佳的药代动力学参数,所述施用途径如口服施用、吸入、鼻内施用、局部施用、肠胃外施用、静脉内施用、皮下施用、关节内施用、肌肉内施用、腹膜内施用、经皮施用、皮肤施用或它们的任何组合。

[0252] 在一些实施方案中,SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263的任何肽展现出0.5-12小时或1-48小时(达到 $C_{\max}$)的平均 $T_{\max}$;在通过口服途径向受试者施用肽后,受试者血清中的平均生物利用度为0.1%-10%;在向受试者口服施用用于递送至胃肠道后,血清中的平均生物利用度小于0.1%;在肠胃外施用后,血清中的平均生物利用度为10%-100%;在向受试者施用肽后,受试者的平均 $t_{1/2}$ 为0.1小时-168小时,或0.25小

时-48小时;在向受试者施用肽后,肽的平均清除率(CL)为0.5-100L/小时或0.5-50L/小时;在向受试者全身施用肽(或者任选地没有全身摄取)后,受试者的平均分布体积(V_d)为200-20,000mL,它们的任何组合。

[0253] 制造方法

[0254] 多种表达载体/宿主系统可用于产生本文所述的肽的重组表达。此类系统的非限制性实例包括微生物,如用含有编码本文所述的肽或肽融合蛋白/嵌合蛋白的核酸序列的重组噬菌体DNA、质粒DNA或粘粒DNA表达载体转化的细菌;用含有上述核酸序列的重组酵母表达载体转化的酵母;用含有上述核酸序列的重组病毒表达载体(例如,杆状病毒)感染的昆虫细胞系统;用重组病毒表达载体(例如,花椰菜花叶病毒(CaMV)、烟草花叶病毒(TMV))感染或用含有上述核酸序列的重组质粒表达载体(例如,Ti质粒)转化的植物细胞系统;或者用重组病毒表达载体(例如,腺病毒、痘苗病毒)感染的动物细胞系统,包括经工程化以含有上述核酸序列的多个拷贝的细胞系(在双微体染色体(例如,鼠细胞系)中稳定扩增(例如,CHO/dhfr、CHO/谷氨酰胺合成酶)或不稳定扩增)。二硫键形成和肽的折叠可发生在表达期间或表达后或两者。

[0255] 宿主细胞可适于表达本文所述的一种或多种肽。宿主细胞可以是原核细胞、真核细胞或昆虫细胞。在一些情况下,宿主细胞能够调节插入序列的表达,或以所需的特定方式修饰和加工基因或蛋白产物。例如,在某些诱导物(例如,用于金属硫蛋白启动子的锌和镉离子)的存在下,来自某些启动子的表达可升高。在一些情况下,肽产物的修饰(例如,磷酸化)和加工(例如,切割)对于肽的功能来说可能是重要的。宿主细胞对于肽的翻译后加工和修饰可具有特征和特定机制。在一些情况下,用于表达肽的宿主细胞分泌最少量的蛋白水解酶。

[0256] 在基于细胞或基于病毒的样品的情况下,可在纯化之前处理生物体以保存和/或释放靶多肽。在一些实施方案中,使用固定剂来固定这些细胞。在一些实施方案中,裂解这些细胞。可以不会破坏很大比例的细胞、但从细胞材料表面和/或从细胞之间的间隙去除蛋白质的方式来处理细胞材料。例如,细胞材料可浸泡在液体缓冲液中,或者在植物材料的情况下,可经受真空以去除位于胞内空间和/或植物细胞壁中的蛋白。如果细胞材料是微生物,则可从微生物培养基中提取蛋白。可替代地,这些肽可包装在包涵体中。这些包涵体可进一步与培养基中的细胞组分分离。在一些实施方案中,这些细胞没有被破坏。由细胞或病毒呈递的细胞肽或病毒肽可用于完整细胞或病毒颗粒的附接和/或纯化。除了重组系统外,还可使用在蛋白和肽合成中采用的多种已知技术在无细胞系统中合成肽。

[0257] 在一些情况下,宿主细胞产生具有药物附接点的肽。附接点可包含赖氨酸残基、N末端、半胱氨酸残基、半胱氨酸二硫键或非天然氨基酸,或如由酶靶向的独特肽序列。肽也可经合成产生,如通过固相肽合成或溶液相肽合成。肽在合成期间或合成后或两者可被折叠(形成二硫键)。肽片段可经合成或经重组产生,然后经合成、经重组或经由酶连接在一起。

[0258] 图3示出了制造表达本公开的肽的构建体的方法的示意图,所述构建体如图2中示出的且如本公开通篇所述的和本文所提供的SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ

ID NO:263中的构建体。

[0259] 在其他方面,本公开的肽可通过常规固相化学合成技术,例如根据Fmoc固相肽合成方法(“Fmoc solid phase peptide synthesis,a practical approach,”由W.C.Chan和P.D.White编辑,Oxford University Press,2000)、Boc固相肽合成或溶液相肽合成来制备。二硫键可在从树脂上切割后形成,如通过空气氧化或具有设定pH范围(如7-10)的缓冲系统形成,并且可含有氧化还原体系如谷胱甘肽/氧化型谷胱甘肽或半胱氨酸/胱氨酸。二硫键还可通过选择性保护和脱保护特定的半胱氨酸残基,随后通过氧化形成,或在树脂上形成。可在生产过程中的任何一个或多个步骤中,如通过反相色谱法来纯化肽。肽可通过冻干分离,并且可以是多种盐形式(如TFA盐或铵和乙酸盐)。

[0260] 肽的药物组合物

[0261] 本公开的药物组合物可以是本文所述的任何肽与其他化学组分(如载体、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂、抗氧化剂、增溶剂、缓冲剂、渗透剂、盐、表面活性剂、氨基酸、包封剂、增量剂、冷冻保护剂和/或赋形剂)的组合。药物组合物促进了向生物体施用本文所述的肽。药物组合物可通过多种形式和途径(包括例如,静脉内、皮下、肌肉内、直肠、气溶胶、肠胃外、眼、肺、经皮、阴道、视神经、鼻腔、口服、舌下、吸入、皮肤、鞘内、鼻内、关节内和局部施用)以治疗有效量作为药物组合物进行施用。药物组合物可以局部或全身方式进行施用,例如,经由将本文所述的肽直接注射到器官中,任选地在贮库中。

[0262] 肠胃外注射剂可配制用于推注注射或连续输注。药物组合物可以是适于肠胃外注射的呈油性或水性媒介物中的无菌悬浮液、溶液或乳液的形式,并且可含有配制剂,如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。用于肠胃外施用的药物配制品包括本文所述的呈水溶性形式的肽的水溶液。本文所述的肽的悬浮液可制备成油性注射悬浮液。合适的亲脂溶剂或媒介物包括脂肪油(如芝麻油)、或合成的脂肪酸酯(如油酸乙酯或甘油三酯)、或脂质体。水性注射悬浮液可含有增加该悬浮液的粘度的物质,如羧甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖。悬浮液还可含有合适的稳定剂或剂,这些稳定剂或剂增加了本文所述的此类肽的溶解度和/或减少了其聚集以允许制备高度浓缩的溶液。可替代地,本文所述的肽在使用前可以是冻干形式或粉末形式,以用合适的媒介物(例如无菌无热原质水)复原。在一些实施方案中,静脉内施用纯化的肽。

[0263] 本公开的肽可在外科手术过程中直接应用于器官或器官组织或细胞中,如脑或脑组织或癌细胞中。本文所述的重组肽可局部施用,并且可配制成多种可局部施用的组合物,如溶液、悬浮液、洗剂、凝胶、糊剂、药用棒、香膏、乳膏和软膏。此类药物组合物可含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0264] 在实践本文提供的治疗或使用方法中,治疗有效量的本文所述的肽可在药物组合物中被施用至患有影响免疫系统的疾患的受试者。在一些实施方案中,受试者是哺乳动物(如人)。治疗有效量可根据疾病的严重程度、受试者的年龄和相对健康状况、所用化合物的效力以及其他因素而广泛变化。

[0265] 药物组合物可使用一种或多种药学上可接受的载体(包含赋形剂和助剂,它们促进了将这些活性化合物加工成药学上可使用的制剂)来配制。可根据所选择的施用途径来修饰配制品。包含本文所述的肽的药物组合物可例如通过在重组系统中表达肽、纯化肽、冻干肽、混合、溶解、造粒、造糖衣丸、研磨、乳化、包封、包埋或压缩过程来制造。药物组合物可

包括至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂、以及呈游离碱或药学上可接受的盐形式的本文所述的化合物。

[0266] 制备本文所述的肽(其包含本文所述的化合物)的方法包括用一种或多种惰性的、药学上可接受的赋形剂或载体配制本文所述的肽,以形成固体、半固体或液体组合物。固体组合物包括例如粉末、片剂、可分散颗粒剂、胶囊、扁囊剂和栓剂。这些组合物还可含有少量无毒的辅助物质,如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂和其他药学上可接受的添加剂。

[0267] 药学上可接受的赋形剂的非限制性实例可例如在,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第19版(Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995);Hoover, John E.,Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton, Pennsylvania1975;Lieberman,H.A.和Lachman,L.编辑,Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Decker,New York,N.Y.,1980;以及Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,第7版(Lippincott Williams&Wilkins1999)中找到,所述文献各自以引用方式整体并入。

[0268] 药物组合物的施用

[0269] 本公开的药物组合物可以是本文所述的任何肽与其他化学组分(如载体、稳定剂、稀释剂、分散剂、悬浮剂、增稠剂和/或赋形剂)的组合。药物组合物促进了向生物体施用本文所述的肽。药物组合物可通过多种形式和途径(包括例如,静脉内、皮下、肌肉内、直肠、气溶胶、肠胃外、眼、肺、经皮、阴道、视神经、鼻腔、口服、吸入、皮肤、关节内、鞘内、鼻内和局部施用)以治疗有效量作为药物组合物进行施用。药物组合物可以局部或全身方式进行施用,例如,经由将本文所述的肽直接注射到器官中,任选地在贮库中。

[0270] 肠胃外注射剂可配制用于推注注射或连续输注。药物组合物可以是适于肠胃外注射的呈油性或水性媒介物中的无菌悬浮液、溶液或乳液的形式,并且可含有配制剂,如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。用于肠胃外施用的药物配制品包括本文所述的呈水溶性形式的肽的水溶液。本文所述的肽的悬浮液可制备成油性注射悬浮液。合适的亲脂溶剂或媒介物包括脂肪油(如芝麻油)、或合成的脂肪酸酯(如油酸乙酯或甘油三酯)、或脂质体。水性注射悬浮液可含有增加该悬浮液的粘度的物质,如羧甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖。悬浮液还可含有合适的稳定剂或剂,这些稳定剂或剂增加了本文所述的此类肽的溶解度和/或减少了其聚集以允许制备高度浓缩的溶液。可替代地,本文所述的肽在使用前可以是冻干形式或粉末形式,以用合适的媒介物(例如无菌无热原质水)复原。在一些实施方案中,静脉内施用纯化的肽。本文所述的肽可施用至受试者,归巢、靶向、迁移至、被保留于和/或结合、或被导向至器官(例如,软骨)。

[0271] 本公开的肽可在外科手术过程中直接应用于器官或器官组织或细胞中,如软骨或软骨组织或细胞中。本文所述的重组肽可局部施用,并且可配制成多种可局部施用的组合物,如溶液、悬浮液、洗剂、凝胶、糊剂、药用棒、香膏、乳膏和软膏。此类药物组合物可含有增溶剂、稳定剂、张力增强剂、缓冲剂和防腐剂。

[0272] 在实践本文提供的治疗或使用方法中,治疗有效量的本文所述的肽在药物组合物中被施用至患有疾患的受试者。在一些情况下,药物组合物将影响动物的生理学,如免疫系统、炎症应答或其他生理效应。在一些实施方案中,受试者是哺乳动物(如人)。治疗有效量可根据疾病的严重程度、受试者的年龄和相对健康状况、所用化合物的效力以及其他因素

而广泛变化。

[0273] 药物组合物可使用一种或多种药学上可接受的载体(包含赋形剂和助剂,它们促进了将这些活性化合物加工成药学上可使用的制剂)来配制。可根据所选择的施用途径来修饰配制品。包含本文所述的肽的药物组合物可例如通过在重组系统中表达肽、纯化肽、冻干肽、混合、溶解、造粒、造糖衣丸、研磨、乳化、包封、包埋或压缩过程来制造。药物组合物可包括至少一种药学上可接受的载体、稀释剂或赋形剂、以及呈游离碱或药学上可接受的盐形式的本文所述的化合物。

[0274] 制备本文所述的肽(其包含本文所述的化合物)的方法包括用一种或多种惰性的、药学上可接受的赋形剂或载体配制本文所述的肽,以形成固体、半固体或液体组合物。固体组合物包括例如粉末、片剂、可分散颗粒剂、胶囊、扁囊剂和栓剂。这些组合物还可含有少量无毒的辅助物质,如润湿剂或乳化剂、pH缓冲剂和其他药学上可接受的添加剂。

[0275] 药学上可接受的赋形剂的非限制性实例可例如在,Remington:The Science and Practice of Pharmacy,第19版(Easton,Pa.:Mack Publishing Company,1995);Hoover, John E.,Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton, Pennsylvania1975;Lieberman,H.A.和Lachman,L.编辑,Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Decker,New York,N.Y.,1980;以及Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,第7版(Lippincott Williams&Wilkins1999)中找到,所述文献各自以引用方式整体并入。

[0276] 肽在成像和外科手术方法中的用途

[0277] 本公开总体上涉及归巢、靶向、迁移至、被保留于、积聚于和/或结合至、或被导向至体内特定区、组织、结构或细胞的肽和使用此类肽的方法。这些肽具有与软骨接触的能力,这使得它们可用于多种应用。特别地,这些肽可应用于肽所导向的生物分子的位点特异性调节。此类肽的最终用途可包括例如,成像、研究、治疗、治疗诊断、药物、化学疗法、螯合疗法、靶向药物递送和放射疗法。一些用途可包括靶向药物递送和成像。

[0278] 在一些实施方案中,本公开提供了用于检测癌症、癌组织或肿瘤组织的方法,所述方法包括以下步骤:使目标组织与本公开的肽接触,其中所述肽复合、缀合或融合至可检测剂;以及测量所述肽的结合水平,其中相对于正常组织,升高的结合水平指示所述组织是癌症、癌组织或肿瘤组织。

[0279] 在一些实施方案中,本公开提供了对受试者的器官或身体区或区域、组织或结构成像的方法,所述方法包括向所述受试者施用本文所公开的肽或药物组合物以及对所述受试者成像。在一些实施方案中,这种成像用于检测与软骨或软骨功能相关的疾患。在一些情况下,所述疾患是炎症、癌症、退化、生长紊乱、遗传的、撕裂或损伤,或其他合适的疾患。在一些情况下,所述疾患是软骨营养不良、创伤性破裂或脱离、外科手术后在含有软骨的身体区的疼痛、肋软骨炎、疝出、多软骨炎、关节炎、骨关节炎、类风湿性关节炎、强直性脊柱炎(AS)、系统性红斑狼疮(SLE或“狼疮”)、银屑病关节炎(PsA)、痛风、软骨发育不全,或其他合适的疾患。在一些情况下,所述疾患与软骨的癌症或肿瘤相关。在一些情况下,所述疾患是一种类型的软骨瘤或软骨肉瘤(无论是否转移),或其他合适的疾患。在一些实施方案中,如与癌相关的那些,成像可能与外科手术移除受试者的患病区、组织、结构或细胞相关。

[0280] 此外,本公开提供了使用与可检测剂复合、缀合或融合的本公开的肽,对患病的或

发炎的组织、癌症、癌组织或肿瘤组织进行术中成像和切除的方法。在一些实施方案中,使用本公开的肽通过荧光成像可检测所述患病的或发炎的组织、癌症、癌组织或肿瘤组织,所述荧光成像允许癌症、癌组织或肿瘤组织的术中可视化。在一些实施方案中,本公开的肽复合、缀合或融合至一种或多种可检测剂。在另一个实施方案中,所述可检测剂包含与肽偶联的荧光部分。在另一个实施方案中,所述可检测剂包含放射性核素。在一些实施方案中,在开放式外科手术的过程中实现成像。在另外的实施方案中,使用内窥镜检查或其他非侵入性外科手术技术来完成成像。

[0281] 软骨病症的治疗

[0282] 如本文所用,术语“有效量”可指使所治疗疾病或疾患的一种或多种症状得到某种程度缓解的剂或化合物的充足施用量。结果可为体征、症状或疾病原因的减少和/或缓和,或者任何其他所需的生物系统变化。可施用包含此类剂或化合物的组合物用于预防性、增强性和/或治疗性处理。任何个体情况中的适当“有效”量可使用如剂量增加研究等技术来测定。

[0283] 本公开的方法、组合物和药盒可包含防止、治疗、抑制、逆转或减轻疾患症状的方法。所述治疗可包括用本公开的肽治疗受试者(例如,个体、家畜、野生动物或患有疾病或疾患的实验动物)。在治疗疾病中,所述肽可接触受试者的软骨。所述受试者可以是人。受试者可以是人;非人灵长类动物,如黑猩猩、或其他猿类和猴类;农场动物,如牛、马、绵羊、山羊、猪;家畜,如兔、狗和猫;实验动物,包括啮齿动物,如大鼠、小鼠和豚鼠等。受试者可以是任何年龄的。受试者可以是例如,老年人、成人、青少年、未成年人、儿童、幼儿、婴儿或子宫内的胎儿。

[0284] 可在疾病的临床发作前向受试者提供治疗。可在疾病的临床发作后向受试者提供治疗。可在疾病的临床发作后1天、1周、6个月、12个月、或2年或更长一段时间后,向受试者提供治疗。可在疾病的临床发作后,向受试者提供超过1天、1周、1个月、6个月、12个月、2年或更长时间的治疗。可在疾病的临床发作后,向受试者提供少于1天、1周、1个月、6个月、12个月、或2年的治疗。治疗还可包括在临床试验中治疗人。治疗可包括向受试者施用药物组合物,如本公开通篇所述的一种或多种药物组合物。治疗可包括每日一次给药。治疗可包括将本公开的肽经肠胃外、静脉内、皮下、肌肉内、通过吸入、经皮肤、关节内注射、口服、鞘内、经皮、鼻内,经由腹膜途径,或直接在关节上或关节内,例如经由局部、关节内注射途径或注射施用途径递送至受试者。治疗可包括将肽-活性剂复合物经肠胃外、静脉内、皮下、肌肉内、通过吸入、经皮肤、关节内注射、口服、鞘内、经皮、鼻内,经由腹膜途径,或直接在关节上或关节内,或直接在软骨上、软骨附近或软骨内,例如经由局部、关节内注射途径或注射施用途径施用至受试者。

[0285] 可用本公开的肽治疗的软骨疾病或疾患的类型可包括炎症、疼痛管理、抗感染、疼痛缓解、抗细胞因子、癌症、损伤、退化、遗传基础、重塑、增生、外科手术损伤/创伤等。与软骨相邻的骨的疾病或疾患也可用本公开的肽治疗。可用本公开的肽治疗的软骨疾病或疾患的实例包括肋软骨炎、椎间盘突出症、复发性多软骨炎、关节软骨损伤、任何形式的风湿疾病(例如,类风湿性关节炎(RA)、强直性脊柱炎(A S)、系统性红斑狼疮(SLE或“狼疮”)、狼疮关节炎、银屑病关节炎(Ps A)、骨关节炎、痛风等)、疝出、软骨发育不全、良性或非癌性软骨瘤、恶性或癌性软骨肉瘤、软骨营养不良、髌骨软骨软化症、肋软骨炎、拇趾僵硬、髌关节唇

撕裂、剥脱性骨软骨炎、骨软骨生成病症、半月板撕裂、鸡胸、漏斗胸、软骨病、软骨软化症、多软骨炎、复发性多软骨炎、骨骺滑脱、剥脱性骨软骨炎、软骨营养不良、肋软骨炎、软骨膜炎、骨软骨瘤、膝骨关节炎、手指骨关节炎、手腕骨关节炎、髌骨关节炎、脊柱骨关节炎、软骨软化症、骨关节炎易感性、踝骨关节炎、颈椎病、继发性软骨肉瘤、骨关节炎中可见小而而不稳定的结节、骨软骨病、原发性软骨肉瘤、软骨病症、硬皮病、胶原蛋白病症、软骨营养不良、泰齐(Tietze)综合征、弗兰-克伊斯氏皮肤软骨角膜营养不良、多发性骨骺发育不良1型、多发性骨骺发育不良2型、多发性骨骺发育不良3型、多发性骨骺发育不良4型、多发性骨骺发育不良5型、心智缺陷型耳软骨骨化、肌肉耗损和骨质变化、骨膜软骨肉瘤、腕骨软骨瘤病、软骨发育不全、基因软骨瘤病II型、基因软骨瘤病、软骨营养不良一性发育病症、软骨瘤、脊索瘤、骨发育不全1型、骨发育不全III型、骨发育不全2型、致密性软骨发育不全、手指家族性骨关节病、软骨生成病症-肾炎、眼距过宽的鼻翼软骨缺损、翼软骨生成病症-缺损-眼距过宽、皮尔罗宾氏综合征-胎儿软骨营养不良、不规则椎体的内生软骨瘤病、区域性软骨发育不全-腹肌发育不全、剥脱性骨软骨炎、家族性关节软骨钙质沉着症、气管支气管软化症、软骨炎、软骨生成病症、Jequier-Kozlowski-骨骼发育不良、软骨营养不良、颅骨骨关节病、泰齐综合征、髌关节发育不良-外生软骨瘤、贝塞尔-哈根(Bessel-Hagen)疾病、软骨瘤病(良性)、内生软骨瘤病(良性)、由于磷灰石晶体沉积导致的软骨钙质沉着症、Meyenburg-Altherr-Uehlinger综合征、内生软骨瘤病-侏儒症-耳聋、过早生长板闭合(例如,由于侏儒症、损伤、治疗如青少年痤疮的维甲酸治疗、或ACL修复导致的)、Astley-Kendall综合征、滑膜骨软骨瘤病、严重软骨发育不全伴发育迟缓和黑棘皮病、软骨钙质沉着症、Stanescu综合征、家族性剥脱性骨软骨炎、软骨成长不全1A型、软骨成长不全2型、软骨成长不全、Langer-Saldino型、软骨成长不全1B型、软骨成长不全1A和1B型、软骨成长不全II型-软骨发育不良、软骨成长不全、软骨成长不全3型、软骨成长不全4型、软骨钙质沉着症1型、软骨钙质沉着症2型、家族性关节软骨钙质沉着症、萎缩性发育不良、纤维软骨增生症、软骨发育低下、Keutel综合征、Maffucci综合征、骨关节炎易感性6型、骨关节炎易感性5型、骨关节炎易感性4型、骨关节炎易感性3型、骨关节炎易感性2型、骨关节炎易感性1型、假性软骨发育不全、菜花状耳、肋软骨炎、生长板骨折、漏斗胸、脓毒性关节炎、痛风、假性痛风(焦磷酸钙沉积疾病或CPPD)、痛风性关节炎、关节内或附近的细菌、病毒或真菌感染、滑囊炎、腱炎、关节病或关节疾病疾患。可用本公开的肽治疗的骨疾病或疾患的实例包括骨质减少、绝经后骨损失、骨维持、骨折、关节成形术恢复、骨质疏松症、由于转移性癌症导致的骨损失、由于骨损失导致的骨折(例如,骨质疏松症患者的髌部骨折)、病理性骨折或非典型骨折。

[0286] 在一些实施方案中,本公开的肽或肽缀合物可施用至受试者以靶向关节炎关节。在其他实施方案中,本公开的肽或肽缀合物可施用至受试者以治疗关节炎关节。

[0287] 在一些实施方案中,本公开提供了用于治疗癌症的方法,所述方法包括向有需要的受试者施用有效量的本公开的肽。

[0288] 在一些实施方案中,本公开提供了用于治疗癌症的方法,所述包括向有需要的患者施用有效量的包含本公开的肽和药学上可接受的载体的药物组合物。

[0289] 在一些实施方案中,本公开的肽可用于治疗软骨肉瘤。软骨肉瘤是软骨生成细胞的癌症,并且通常发现于骨和关节中。它属于骨和软组织肉瘤的家族。在某些实施方案中,施用本公开的肽或肽缀合物可用于对患有软骨肉瘤的受试者进行成像和诊断或靶向和治

疗。施用本公开的肽或肽缀合物可与消融放射疗法或质子疗法组合使用以治疗软骨肉瘤。所述受试者可以是人或动物。

[0290] 在一些实施方案中,本公开的肽或肽缀合物可用于治疗脊索瘤。在某些实施方案中,施用本公开的肽或肽缀合物可用于对患有脊索瘤的受试者进行成像和诊断或靶向和治疗。施用本公开的肽或肽缀合物可与酪氨酸激酶抑制剂(如甲磺酸伊马替尼)、和消融放射疗法或质子疗法组合使用以治疗脊索瘤。施用本公开的肽或肽缀合物可与抗血管剂(如贝伐单抗)和表皮生长因子受体抑制剂(如厄洛替尼)组合使用以治疗脊索瘤。所述受试者可以是人或动物。

[0291] 在一些实施方案中,本公开提供了用于抑制细胞的侵袭活性的方法,所述方法包括向受试者施用有效量的本公开的肽。

[0292] 在一些实施方案中,本公开的肽复合、缀合或融合至一种或多种治疗剂。在另外的实施方案中,所述治疗剂是选自但不限于以下的化疗剂、抗癌药物或抗癌剂:抗炎剂(如像糖皮质激素、皮质类固醇)、蛋白酶抑制剂(如像胶原酶抑制剂或基质金属蛋白酶抑制剂(即MMP-13抑制剂))、氨基糖、维生素(例如,维生素D)和抗生素、抗病毒剂或抗真菌剂、他汀、免疫调节剂、放射性同位素、毒素、酶、敏化药物、核酸(包括干扰RNA)、抗体、抗血管生成剂、顺铂、抗代谢物、有丝分裂抑制剂、生长因子抑制剂、紫杉醇、替莫唑胺、托泊替康、氟尿嘧啶、长春新碱、长春碱、丙卡巴肼、钨烯咪胺、六甲蜜胺、氨甲喋呤、巯嘌呤、硫鸟嘌呤、磷酸氟达拉滨、克拉屈滨、喷司他丁、阿糖胞苷、阿扎胞苷、依托泊苷、替尼泊苷、伊立替康、多西他赛、多柔比星、柔红霉素、放线菌素D、伊达比星、普卡霉素、丝裂霉素、博来霉素、他莫昔芬、氟他胺、亮丙瑞林、戈舍瑞林、氨鲁米特、阿那曲唑、安吡啶、天冬酰胺酶、米托蒽醌、米托坦和氨磷汀,及其等效物,以及光消融。这些活性剂中的一些诱导程序性细胞死亡,如靶细胞中的细胞凋亡,从而改善症状或减轻疾病。细胞凋亡可由许多活性剂诱导,所述活性剂包括例如化学治疗剂、抗炎剂、皮质类固醇、NSAID、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 调节剂、肿瘤坏死因子受体(TNFR) 家族调节剂。在一些实施方案中,本公开的肽可用于将活性剂靶向细胞死亡或细胞杀伤的途径,所述活性剂如半胱天冬酶、细胞凋亡激活剂和抑制剂、XBP-1、Bcl-2、Bcl-X1、Bcl-w、以及本文所公开的其他物质。在其他实施方案中,所述治疗剂是任何非甾体抗炎药(NSAID)。所述NSAID可以是任何杂环乙酸衍生物(如酮咯酸、吲哚美辛、依托度酸或托美汀)、任何丙酸衍生物(如萘普生)、任何烯醇酸衍生物、任何氨基甲酸衍生物、任何选择性COX-2抑制剂(如塞来昔布)、任何磺酰苯胺、任何水杨酸盐、醋氯芬酸、萘丁美酮、舒林酸、双氯芬酸或布洛芬。在其他实施方案中,所述治疗剂是任何类固醇,如地塞米松、布地奈德、单丙酸倍氯米松、去异丁酰基环索奈德、曲安奈德、可的松、泼尼松、泼尼松龙、己曲安奈德或甲基泼尼松龙。在其他实施方案中,所述治疗剂是止痛剂,如对乙酰氨基酚、阿片类药物、局部麻醉剂、抗抑郁药、谷氨酸受体拮抗剂、腺苷或神经肽。在一些实施方案中,治疗由施用任何上述治疗剂和肽缀合物的组合组成,如向患者施用地塞米松-肽缀合物和NSAID的治疗。靶向软骨的本公开的肽可用于治疗如本文所述的疾病疾患,例如,包括撕裂、损伤(即运动损伤)、遗传因素、退化、变薄、炎症、癌症的任何疾病或疾患,或者软骨的任何其他疾病或疾患,或者用于靶向治疗活性物质以治疗这些疾病以及其他疾病。在其他情况下,本公开的肽可用于治疗创伤性破裂、脱离、肋软骨炎、椎间盘突出症、复发性和非复发性多软骨炎、关节软骨损伤、骨关节炎、关节炎或软骨发育不全。在一些情况下,所述肽或肽活性剂可用于靶

向软骨中的癌症,例如良性软骨瘤或恶性软骨肉瘤,方式为通过扩散进入软骨细胞来接触软骨,然后具有抗肿瘤功能、靶向毒性、抑制转移等。此外,此类肽或肽活性剂可用于标记、检测或成像此类软骨病变,包括肿瘤和转移以及其他病变(这些病变可通过多种外科手术技术或通过靶向诱导程序性细胞死亡或杀伤细胞的肽活性剂来去除)。

[0293] 可施用本文所述的毒液或一种或多种毒素衍生的肽、肽、经修饰的肽、经标记的肽、肽活性剂缀合物和药物组合物用于预防性和/或治疗性治疗。在治疗性应用中,可按足以治愈或至少部分地抑制疾病或疾患的症状,或者足以治愈、愈合、改善或减轻疾患的量将组合物施用至已经患有疾病或疾患的受试者。还可施用本文所述的此类肽以预防(全部或部分)疾患,减少疾患发展、感染或恶化的可能性。对该用途有效的量可基于疾病或疾患的严重程度和病程、先前的治疗、受试者的健康状况、体重、对药物的应答以及治疗医师的判断而变化。本文所述的毒液或一种或多种毒素衍生的肽、肽、经修饰的肽、经标记的肽、肽活性剂缀合物和药物组合物可允许肽的靶向归巢和任何缀合物的局部递送。例如,复合、缀合或融合至类固醇的肽允许类固醇的局部递送,其显著地比传统的全身性类固醇更有效且毒性更低。复合、缀合或融合至NSAID的肽是另一实例。在这种情况下,复合、缀合或融合至NSAID的肽允许NSAID的局部递送,其允许施用更低的NSAID剂量并且随后的毒性更低。与没有靶向的全身给药相比,通过向关节递送活性剂,疼痛缓解可更快,可更持久,并且可用更低的全身剂量和位点外不希望效果获得。

[0294] 靶向软骨的本公开的肽可用于治疗或管理与软骨损伤或病症、或本文所述的任何其他软骨或关节疾患相关的疼痛。肽可直接使用或作为活性药物、肽或分子的载体使用。例如,因为离子通道可与疼痛相关并且可在疾病状态(如关节炎)中被激活,所以与离子通道相互作用的肽可直接用于减轻疼痛。在另一个实施方案中,所述肽复合、缀合或融合至具有抗炎活性的活性剂,其中所述肽充当局部递送活性剂以减轻疼痛的载体。肽或肽-活性剂复合物可经由多种活性发挥其作用,包括抗炎、阻止软骨破坏、刺激软骨再生、恢复软骨以及本文所述的其他作用。

[0295] 在一些实施方案中,本文所述的肽提供了治疗受试者的软骨疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的包含序列SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:242、SEQ ID NO:260的肽或其片段。在一些实施方案中,本文所述的肽提供了治疗受试者的软骨疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的包含序列SEQ ID NO:52-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:241-SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240的肽或其片段。在一些实施方案中,本文所述的肽提供了治疗受试者的软骨疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用SEQ ID NO:21-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:87-SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:263中的任一个的肽或其片段。任选地,所述肽或其片段可作为本身施用,或者可作为肽-活性剂复合物施用。

[0296] 肾病症的治疗

[0297] 在一些实施方案中,本公开的归巢、靶向、被导向至、迁移至、被保留于、积聚于、或结合至肾的特定区、组织、结构或细胞的肽可用于治疗肾病症。在其他实施方案中,肽用于

本公开的肽缀合物中以递送用于治疗肾病症的活性剂。

[0298] 在一些实施方案中,本公开的肽和肽缀合物用于治疗肾、或其区域、组织、结构或细胞的疾患。在某些实施方案中,所述疾患与肾或受试者的肾功能相关。本公开涵盖多种急性和慢性肾疾病,包括肾小球疾病、肾小管-间质疾病和微血管疾病。适用于本公开的疾患的实例包括但不限于:高血压性肾损害;急性肾疾病和病症(AKD);急性肾损伤(AKI),其由于缺血再灌注损伤、药物治疗(如化学疗法、心血管外科手术、外科手术、医疗干预或治疗、造影剂肾病)导致,或者由顺铂或卡铂诱导,这些疾病可预防性治疗,已确定的AKI包括缺血性肾损伤、内毒素血症诱导的AKI、内毒素血症/败血症综合征、或已确定的肾毒性AKI(例如,横纹肌溶解症、造影剂肾病、顺铂/卡铂AKI、氨基糖苷肾毒性);终末期肾病;急性和快速进展性肾小球肾炎;肾病综合征的急性表现;急性肾盂肾炎;急性肾衰竭;慢性肾小球肾炎;慢性心力衰竭;慢性间质性肾炎;肾移植后移植物抗宿主病;慢性肾疾病(CKD)(如糖尿病性肾病);高血压性肾硬化;特发性慢性肾小球肾炎(例如,局灶性肾小球硬化、膜性肾病、膜增生性肾小球肾炎、微小病变疾病转变为慢性疾病、抗GBM疾病、快速进展性新月体性肾小球肾炎、IgA肾病);继发性慢性肾小球肾炎(例如,系统性狼疮、结节性多动脉炎、硬皮病、淀粉样变性、心内膜炎);遗传性肾病(例如,多囊性肾疾病、阿尔波特氏综合征);药物(例如,中草药、NSAID)诱导的间质性肾炎;多发性骨髓瘤或肉样瘤;或肾移植,如供体肾预防(移植前治疗供体肾);移植后治疗以治疗延迟的移植物功能、急性排斥反应或慢性排斥反应;慢性肝病;慢性肾盂肾炎;糖尿病;糖尿病性肾疾病;纤维化;局灶性节段性肾小球硬化;古德帕斯丘氏疾病;高血压性肾硬化;IgG4相关性肾疾病;间质性炎症;狼疮肾炎;肾炎综合征;泌尿道部分阻塞;多囊性肾疾病;进行性肾疾病;肾细胞癌症;肾纤维化;和血管炎。例如,在某些实施方案中,本公开的肽和肽缀合物用于减少急性肾损伤,以防止其进展为慢性肾疾病。

[0299] 可替代地或组合地,在一些实施方案中,本公开的肽和肽缀合物用于在受试者的肾中引发保护性应答,如缺血预处理和/或获得性细胞抗性。在一些实施方案中,通过施用上调保护性应激蛋白(如抗氧化剂、抗炎蛋白、或蛋白酶抑制剂)的表达的剂(例如,本公开的肽或肽缀合物)来诱导缺血预处理和/或获得性细胞抗性。在某些实施方案中,例如相对于没有诱导保护性应答的情况,所述诱导的应答通过全部或部分保留肾功能和/或通过减少对肾组织和细胞的损伤来保护肾。与用于诱导缺血预处理和/或获得性细胞抗性的其他剂相比,本公开的肽和肽缀合物可提供某些益处,如定义明确的化学结构和避免低pH沉淀。

[0300] 在一些实施方案中,诱导所述保护性应答以保护肾或其组织或细胞免受预期发生(例如,由于受试者的疾患,可能发生与计划事件(如医疗程序)相关的事件)或已经发生的损伤或伤害。在某些实施方案中,所述诱导的应答防止或减少由损伤或伤害引起的对肾或其组织或细胞的损害程度。例如,在某些实施方案中,所述肽和肽缀合物通过激活保护性途径和/或上调保护性应激蛋白的表达来诱导获得性细胞抗性。任选地,所述肽和肽缀合物能够诱导此类保护性应答,同时对肾造成最小的损伤或没有损伤。

[0301] 在多种实施方案中,所述损伤或伤害与以下一项或多项相关:外科手术、造影剂成像、心肺分流术、球囊血管成形术、诱导的心脏或脑缺血再灌注损伤、器官移植、败血症、休克、低血压、高血压、肾灌注不足、化学疗法、药物施用、肾毒性药物施用、钝力创伤、穿刺、毒药或吸烟。例如,在某些实施方案中,所述损伤或伤害与已经或将要对受试者进行的医疗程序相关,所述医疗程序如以下一项或多项:外科手术、造影剂成像、心肺分流术、球囊血管成

形术、诱导的心脏或脑缺血再灌注损伤、器官移植、化学疗法、药物施用或肾毒性药物施用。

[0302] 在一些实施方案中,所述肽本身展现出肾治疗效果。例如,在某些实施方案中,所述胱氨酸密集肽与肾离子通道相互作用,抑制蛋白酶,具有抗微生物活性,具有抗癌活性,具有抗炎活性,诱导缺血预处理或获得性细胞抗性,或者对受试者的肾产生保护性或治疗效果,或它们的组合。任选地,由所述肽展现出的肾治疗效果是肾保护性效果或肾预防性效果(例如,缺血预处理或获得性细胞抗性),该效果保护肾或其组织或细胞免受即将发生的损伤或伤害。肽或肽-活性剂复合物可经由多种活性发挥其作用,包括抗炎、阻止肾破坏、刺激肾再生、恢复肾功能以及本文所述的其他作用。

[0303] 例如,在某些实施方案中,本公开的肽激活保护性途径和/或上调肾或其组织或细胞中保护性应激蛋白的表达。作为另一个实例,在某些实施方案中,本公开的肽接近并阻遏细胞内损伤途径。在又一个实例中,在某些实施方案中,本公开的肽抑制间质炎症并防止肾纤维化。作为另一个实例,在某些实施方案中,在施用肾毒性剂(例如,氨基糖苷抗生素(如庆大霉素和米诺环素)、化学治疗剂(如顺铂)、免疫球蛋白或其片段、甘露醇、NSAID(如酮咯酸或布洛芬)、环孢菌素、环磷酰胺、放射性对比染料)之前或同时,施用本公开的肽以使其损害作用最小化,方式例如通过阻断巨蛋白-铜蛋白(cubulin)结合位点使得肾毒性剂穿过肾。

[0304] 在一些实施方案中;本公开提供了包括SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的本公开的任何肽可作为与活性剂的肽缀合物一起用于治疗肾病症,所述肽可复合、缀合或融合至活性剂,并且施用至有需要的受试者以治疗肾病症。

[0305] 在一些实施方案中,可在动物模型中评定本公开的肽向软骨或肾的归巢,所述动物模型如Alves等人(Clin Rev Allergy Immunol.2016年8月;51(1):27-47.doi:10.1007/s12016-015-8522-7);Kuyinu等人(J Orthop Surg Res.2016年2月2日;11:19.doi:10.1186/s13018-016-0346-5);Li等人(Exp Biol Med(Maywood).2015年8月;240(8):1029-38.doi:10.1177/1535370215594583);以及Mullins等人(Dis Model Mech.2016年12月1日;9(12):1419-1433)中描述的那些,所述文献全部以引用方式并入本文。

[0306] 本文所述的多种肽可按任何顺序施用或同时施用。在一些情况下,衍生自毒素或毒液的肽的多个功能片段可按任何顺序施用或同时施用。如果是同时施用,本文所述的多种肽可以单一、统一的形式(如静脉内注射)或以多种形式(如随后的静脉内剂量)提供。

[0307] 肽可被包装为药盒。在一些实施方案中,药盒包括关于肽的使用或施用的书面说明。

[0308] 实施例

[0309] 以下实施例被包括在内以进一步描述本公开的一些实施方案,并且不应当用来限制本公开的范围。

[0310] 实施例1

[0311] 肽的制造

[0312] 使用标准分子生物学技术,将肽序列反向翻译成DNA,合成,并与噬铁蛋白在框内克隆。(M.R.Green,Joseph Sambrook.Molecular Cloning.2012Cold Spring Harbor

Press.)。将所得的构建体包装到慢病毒中,转染到HEK293细胞中,扩增,通过固定化金属亲和色谱法(IMAC)分离,用烟草蚀纹病毒蛋白酶切割,并通过反相色谱法纯化至均一。纯化后,将每种肽冻干并冷冻储存。

[0313] 实施例2

[0314] 肽的放射标记

[0315] 该实施例描述了用标准技术对肽进行放射标记。参见J Biol Chem.254(11):4359-65(1979)。将序列经工程化以在N末端具有氨基酸“G”和“S”。参见Methods in Enzymology V91:1983第570页和Journal of Biological Chemistry 254(11):1979第4359页。使用过量的甲醛以确保完全甲基化(每个游离胺的二甲基化)。在Strata-X柱(Phenomenex 8B-S100-AAK)上经由固相萃取分离经标记的肽,用含有5%甲醇的水漂洗,并在含有2%甲酸的甲醇中回收。随后,在具有温和加热和氮气流的排污蒸发器中去除溶剂。

[0316] 实施例3

[0317] 肽可检测剂复合物

[0318] 该实施例描述了肽的染料标记。重组表达或化学合成本公开的肽,然后使用DCC或EDC经由NHS酯将肽的N末端复合、缀合或融合至可检测剂以产生肽-可检测剂缀合物。所述可检测剂是荧光团染料,其是花菁染料如Cy5.5或Alexa荧光团如Alexa647。

[0319] 将肽可检测剂缀合物施用至受试者。所述受试者可以是人或非人动物。施用后,所述肽可检测剂缀合物归巢至软骨。可对受试者或来自受试者的活组织检查切片进行成像,以可视化所述肽可检测剂缀合物至软骨的定位。在一些方面,在施用后可视化软骨中的肽可检测剂缀合物导致对关节炎、软骨损害或任何软骨病症的诊断。

[0320] 实施例4

[0321] 在肾结扎(Kidney Ligation)情况下的肽的给药

[0322] 该实施例描述了用于与肾结扎联合向小鼠施用肽的给药方案。经由尾静脉注射,将不同剂量的SEQ ID NO:149和SEQ ID NO:150的肽施用至重20g-25g的雌性哈伦(Harlan)无胸腺裸鼠(n=2只小鼠/肽)。一式两份地进行该实验。对肾进行结扎以防止肽的肾过滤。通过甲基化赖氨酸和N末端来对每种肽进行放射标记,因此实际结合剂可含有一个或多个甲基赖氨酸或二甲基赖氨酸和甲基化的或二甲基化的氨基末端。

[0323] 将50-100nmol靶剂量的携带10-25uCi的¹⁴C的每种肽施用至雌性哈伦无胸腺裸鼠,同时对它们进行麻醉。在使动物安乐死并切片之前,允许每种肽在动物内自由循环。

[0324] 该方法适用于SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。

[0325] 实施例5

[0326] 在肾结扎情况下的肽归巢

[0327] 该实施例说明了在施用肽之前肾被结扎的情况下肽向小鼠的软骨的归巢。在实施例4的给药期结束时,将小鼠在己烷/干冰浴中冷冻,然后在羧甲基纤维素块中冷冻。制备全动物矢状薄片,使得薄的冷冻切片可用于成像。用切片获得动物的薄的冷冻切片(包括组织(如脑、肿瘤、肝、肾、肺、心脏、脾脏、胰腺、肌肉、脂肪、胆囊、上胃肠道、下胃肠道、骨、骨

髓、生殖道、眼睛、软骨、胃、皮肤、脊髓、膀胱、唾液腺)和其他类型的组织的成像),允许在冷冻箱中干燥,并暴露于磷光成像板持续约十天。

[0328] 使这些板显影,并将来自每个器官的信号(光密度测定法)归一化为在每只动物的心脏血液中发现的信号。组织中比该组织中预期来自血液的信号更暗的信号表明在区域、组织、结构或细胞中的肽积聚。例如,软骨是无血管的并含有少量血液。选择在软骨(相对于心室)中至少170%信号的比率作为显著靶向软骨的参考水平,其也与薄片图像中软骨组织中的明显积聚有关。图1鉴定了在关节和其他软骨中的SEQ ID NO:150肽分布的位置。图7鉴定了在鼻、脊柱、气管和其他软骨(包括透明软骨如关节软骨和骨膜软骨,以及纤维软骨)中的SEQ ID NO:27肽分布的位置。

[0329] 另外,在治疗后,所述肽可在软骨中保留数小时。如实施例4中那样对SEQ ID NO:150肽进行放射标记,并将100nmol的肽注射到具有完整肾的小鼠中。图4示出了在施用后24小时,SEQ ID NO:150的肽在软骨中的保留和组织分布。

[0330] 该方法适用于SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。

[0331] 实施例6

[0332] 在无肾结扎情况下的肽的给药

[0333] 该实施例描述了用于在无肾结扎情况下向小鼠施用肽的给药方案。施用的肽具有SEQ ID NO:150的序列。通过甲基化赖氨酸和N末端来对肽进行放射标记,因此实际结合剂可含有一个或多个甲基赖氨酸或二甲基赖氨酸和甲基化的或二甲基化的氨基末端。

[0334] 通过尾静脉注射,将100nmol靶剂量的携带10-25 μ Ci的 ^{14} C的每种肽施用至雌性哈伦无胸腺裸鼠。在使动物安乐死并切片之前,允许每种肽在动物内自由循环4小时或24小时。

[0335] 该方法适用于SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。

[0336] 实施例7

[0337] 在完整肾情况下的肽归巢

[0338] 该实施例说明了肽归巢至具有完整肾的动物中的软骨。在实施例6的4小时或24小时给药期结束时,将小鼠在己烷/干冰浴中冷冻,然后在羧甲基纤维素块中冷冻。制备全动物矢状薄片,使得薄的冷冻切片可用于成像。用切片机获得动物的薄的冷冻切片(包括组织(如脑、肿瘤、肝、肾、肺、心脏、脾脏、胰腺、肌肉、脂肪、胆囊、上胃肠道、下胃肠道、骨、骨髓、生殖道、眼睛、软骨、胃、皮肤、脊髓、膀胱、唾液腺)和其他类型的组织的成像),允许在冷冻箱中干燥,并暴露于磷光成像板持续约十天。

[0339] 使这些板显影。组织中比该组织中预期来自血液的信号更暗的信号表明在区域、组织、结构或细胞中的肽积聚。例如,软骨是无血管的并含有少量血液。肾中的高信号表明肽存在于肾中,并在肾中积聚。图1鉴定了在关节和其他软骨以及肾中的SEQ ID NO:150肽

分布的位置。

[0340] 该方法适用于SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。

[0341] 实施例8

[0342] 在治疗剂情况下的肽归巢

[0343] 该实施例描述了复合、缀合或融合至肽的某些示例性治疗剂。重组表达或化学合成公开的肽,然后使用本领域已知的技术(如Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques(Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些)将所述肽复合、缀合或融合至示例性药物(如紫杉醇或曲安奈德或布地奈德)。每个肽复合、缀合或融合一个或多个药物,或者每个肽复合、缀合或融合平均少于一个药物。

[0344] 这些药物与SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽的偶联将药物靶向受试者的软骨。向人或动物施用一种或多种药物-肽缀合物。

[0345] 实施例9

[0346] 肽归巢至关节炎关节

[0347] 该实施例说明了肽归巢至患有关节炎的人或动物中的软骨。重组表达或化学合成公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物后直接使用。肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。将肽或肽缀合物经皮下、静脉内、或口服施用至人或动物、或直接注射到关节内。肽或肽缀合物归巢至软骨。

[0348] 实施例10

[0349] 肽归巢至非人动物中的软骨

[0350] 该实施例说明了本公开的肽或肽缀合物归巢至非人动物中的软骨。非人动物包括但不限于豚鼠、兔、狗、猫、马、大鼠、小鼠、牛、猪、非人灵长类动物,以及其他非人动物。重组表达或化学合成公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物后直接使用。所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。将所得的肽或肽缀合物经皮下、静脉内、或口服施用至非人动物、或直接注射到关节内。通过LC/MS、放射自显影、正电子发射断层显像(PET)或荧光成像评定生物分布。肽或肽缀合物归巢至非人动物中的软骨。

[0351] 实施例11

[0352] 归巢肽的全身荧光和分离的肢体荧光

[0353] 该实施例说明了本公开的归巢肽的全身荧光和分离的肢体荧光。经由染料上的活

性NHS酯,将本公开的任何肽在肽的N末端化学复合、缀合或融合至一个近红外荧光团分子。将复合、缀合或融合至荧光团的10nmol剂量的每种肽施用至重20g-25g的雌性哈伦无胸腺裸鼠,并经由尾静脉注射施用。至少一式两份地进行每个实验(n=2只小鼠/组)。在使小鼠在不同时间点安乐死之前,允许肽荧光团缀合物自由循环所述的时间段。在全身成像和分离的后肢成像中评估小鼠的肽荧光的肽分布。

[0354] 对于全身荧光(WBF),在给药期结束时,将小鼠在己烷/干冰浴中冷冻,然后包埋在冷冻的羧甲基纤维素块中。制备全动物矢状薄片,使得薄的冷冻切片可用于成像。使用切片机获得薄的冷冻切片并允许组织的可视化。在成像前,允许切片在冷冻箱中干燥。在荧光切片上进行WBF,将其在Li-Cor Odyssey扫描仪上以169 μ m分辨率、中等质量、700通道、L-2.0强度的设置进行扫描。

[0355] 对于分离的后肢荧光研究,在给药期结束时通过CO₂窒息使小鼠安乐死。在髋关节处取出右后肢并在Spectrum IVIS成像仪(ex/em:675nm.720nm)上成像,曝光时间为1秒,焦点高度为0.5cm。在移除了皮肤且移除了肌肉的情况下,对肢体进行成像。

[0356] 实施例12

[0357] 归巢肽的全身放射自显影

[0358] 该实施例说明了本公开的归巢肽的全身放射自显影。如实施例2中所述,通过在N末端处甲基化赖氨酸来对肽进行放射标记。这样,所述肽可含有甲基赖氨酸或二甲基赖氨酸和甲基化的或二甲基化的氨基末端。经由尾静脉注射,在重20-25g的雌性哈伦无胸腺裸鼠中施用100nmol剂量的放射标记的肽。至少一式两份地进行该实验(n=2只动物/组)。在一些动物中,对肾进行结扎以防止放射标记的肽的肾过滤并延长血浆半衰期。在使动物安乐死并切片之前,允许每种放射标记的肽在动物内自由循环所述的时间段。

[0359] 如下进行全身放射自显影(WBA)矢状切片。在给药期结束时,将小鼠在己烷/干冰浴中冷冻,然后包埋在冷冻的羧甲基纤维素块中。制备全动物矢状薄片,使得薄的冷冻切片可用于成像。使用切片机获得薄的冷冻切片并允许组织(如脑、肿瘤、肝、肾、肺、心脏、脾脏、胰腺、肌肉、脂肪、胆囊、上胃肠道、下胃肠道、骨、骨髓、生殖道、眼睛、软骨、胃、皮肤、脊髓、膀胱、唾液腺、以及更多)的可视化。在成像前,允许切片在冷冻箱中干燥。

[0360] 对于放射自显影成像,将带上安装的薄切片冷冻干燥,并将放射活性样品暴露于磷光成像板7天。使这些板显影,并将来自每个器官的信号(光密度测定法)归一化为在每只动物的心脏血液中发现的信号。组织中比该组织中预期来自血液的信号更暗的信号表明在区域、组织、结构或细胞中的积聚。

[0361] 实施例13

[0362] 软骨细胞中的肽定位

[0363] 该实施例说明了本公开的肽与具有完整肾的动物中软骨内的软骨细胞的结合。在一个实施方案中,如实施例11和实施例12所述对动物给药并进行加工。在给药期结束时,使动物安乐死并任选地移除软骨以用于染色和成像程序。制备全动物矢状薄片,使得薄的冷冻切片可用于染色和成像。使用标准染色技术在薄的冷冻切片或活软骨外植体中鉴定一种或多种以下软骨组分:胶原纤维、糖胺聚糖或软骨细胞。发现本公开的肽经细胞内定位或细胞外结合或两者定位于软骨中的软骨细胞。通过显微镜检查可视化并确认定位。

[0364] 在另一个实施方案中,本公开的肽或肽-药物缀合物在人中施用,并定位于软骨中

的软骨细胞上或软骨细胞中。

[0365] 实施例14

[0366] 软骨细胞外基质中的肽定位

[0367] 该实施例说明了本公开的肽在软骨细胞外基质中的定位。在一个实施方案中,如实施例11和实施例12所述对动物给药并在具有完整肾的动物中进行加工。在给药期结束时,使动物安乐死并任选地移除软骨以用于染色和成像程序。制备全动物矢状薄片,使得薄的冷冻切片可用于染色和成像。如实施例13中所述获得薄的冷冻切片或活软骨外植体并对其进行染色和可视化。发现本公开的肽定位于软骨中的细胞外基质。所述肽可与细胞外基质的一种或多种组分如蛋白聚糖、糖胺聚糖、聚集蛋白聚糖、核心蛋白聚糖或胶原蛋白结合。通过显微镜检查可视化并确认定位。

[0368] 在另一个实施方案中,本公开的肽或肽-药物缀合物在人中施用,并定位于软骨细胞外基质。

[0369] 实施例15

[0370] 肽与软骨外植体的结合

[0371] 该实施例说明了本公开的肽或肽缀合归巢、靶向、被导向至、迁移至、被保留于、积聚于、或结合至培养物中的人和动物软骨外植体。肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。重组表达或化学合成肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物后直接使用。将本公开的肽缀合物的肽与源自人或动物的软骨外植体一起孵育。发现肽缀合物的肽与软骨外植体结合。使用多种方法确认与软骨的相互作用,所述方法包括但不限于液体闪烁计数、共聚焦显微镜检查、免疫组织化学、HPLC或LC/MS。所述肽显示出比施用的非软骨结合肽的对照肽更高水平的信号。

[0372] 实施例16

[0373] 肽对离子通道的影响

[0374] 该实施例描述了本公开的肽与离子通道之间的相互作用。离子通道可与疼痛相关并且可在疾病状态(如关节炎)中被激活。将本公开的肽表达并在药物组合物中施用至患者,以治疗与离子通道相关的并且通过结合、阻断离子通道或与其相互作用可治疗的关节疾患或疾病。离子通道如Nav 1.7被本公开的肽抑制。重组表达或化学合成给定的肽,其中所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263。在表达或合成后,将所述肽直接使用或复合、缀合或融合至治疗性化合物,如本文所述的那些。本公开的肽选择性地与离子通道相互作用,或者经突变以与离子通道相互作用。例如,本公开的肽与Nav 1.7结合或者Nav 1.7被本公开的肽阻断。当将所述肽施用至人受试者时,Nav 1.7信号传导在关节附近的组织中减少,从而提供疼痛缓解。

[0375] 实施例17

[0376] 肽-Fc蛋白融合物

[0377] 该实施例说明了制造和使用肽-Fc蛋白融合物。用HEK293细胞中的人IgG1 Fc蛋白的序列重组表达SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽,以产生SEQ ID NO:216的序列(METDTLLLWVLLLWVPGSTGGSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTPGGSGGSDKTHTCPPCP APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK)

[0378] 通过向N末端添加分泌信号序列并且向C末端添加Fc序列,将本公开的任何肽的序列表示为具有鼠或人Fc的融合蛋白。这产生了具有改善的分泌特性的二价分子。更大的肽-Fc融合物在不同的哺乳动物或昆虫细胞系中表达,并且可用作研究试剂和治疗剂。

[0379] Fc与SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽融合产生SEQ ID NO:216的序列,延长了半衰期并改善了肽在软骨中的生物分布。本公开的任何肽与Fc蛋白共表达以产生具有更长半衰期和改善的归巢至软骨的Fc-融合肽。在SEQ ID NO:216中,分泌信号序列METDTLLLWVLLLWVPGSTG(SEQ ID NO:217)之后是SEQ ID NO:149的肽,随后是Fc蛋白的序列。切割可以是不精确的,这导致在SEQ ID NO:216的位置20或位置21处的切割。

[0380] 实施例18

[0381] 肽缀合物水解

[0382] 该实施例描述了制备具有可调节水解速率的肽缀合物。用修饰(而非使用琥珀酸酐)合成以下所述的肽-药物缀合物,其他分子用于在与最终可水解酯相邻的碳处提供对水解的空间位阻或改变的局部环境。在一个示例性缀合物中,用四甲基琥珀酸酐合成所述肽-药物缀合物以生成位阻酯,这导致水解速率降低。在另一个示例性缀合物中,一个甲基基团存在于相邻的碳处。在另一个示例性缀合物中,两个甲基基团存在于相邻的碳处。在另一个示例性缀合物中,一个乙基基团存在于相邻的碳处。在另一个示例性缀合物中,两个乙基基团存在于相邻的碳处。在另一个示例性缀合物中,如通过使用戊二酸酐而非琥珀酸酐来增加碳接头长度,这增加了局部疏水性并降低了水解速率。在另一个示例性缀合物中,羟基基团位于相邻的碳上,这增加了局部亲水性并提高了水解速率。因此,调节这些示例性缀合物中的水解速率,防止过早切割并确保大多数肽-地塞米松缀合物在通过水解释放药物之前在软骨中积聚,但地塞米松也及时被释放在软骨中。

[0383] 将所得的肽缀合物经皮下、静脉内、口服施用至人或动物、或直接注射到关节内以治疗疾病。

[0384] 实施例19

[0385] 具有稳定的接头的肽复合物

[0386] 该实施例描述了制备具有稳定的接头的肽缀合物。重组表达或化学合成本公开的肽。所述肽经由稳定的接头(如酰胺键或氨基甲酸酯键)复合、缀合或融合至可检测剂或活性剂。基于化学或者基于亚硫酰氯或氯化磷的生物缀合化学,使用标准的1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)或二环己基碳二亚胺(DCC),将肽经由稳定的接头(如酰胺键)复合、缀合或融合至可检测剂或活性剂。

[0387] 经由接头复合、缀合或融合的肽和药物用式肽-A-B-C-药物描述,其中所述接头是

A-B-C。A可以是稳定的酰胺键,其通过使肽上的胺与含有四氟苯基(TFP)酯或NHS酯的接头进行反应而形成。A还可以是稳定的氨基甲酸酯接头,其通过使肽上的胺与咪唑氨基甲酸酯活性中间体(通过CDI与接头上的羟基反应形成)进行反应而形成。A还可以是稳定的仲胺键,其通过肽上的胺与接头上的醛或酮基团的还原烷基化而形成。A还可以是使用接头中的马来酰亚胺或溴乙酰胺与肽中的硫醇形成的稳定的硫醚接头、三唑接头、稳定的脞接头或氧杂吡啶接头。B是 $(-\text{CH}_2-)_x$ 、短PEG $(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_x$ (x 是0-20)。可替代地,接头内的间隔子是任选的,并且可被包括或完全不包括。C是在药物上的胺或羧酸形成的酰胺键、在接头上的马来酰亚胺和药物上的硫氢基之间形成的硫醚、仲胺或叔胺、氨基甲酸酯或其他稳定的键。可使用“Current ADC Linker Chemistry,”Jain等人,Pharm Res,2015DOI 10.1007/s11095-015-1657-7中描述的任何接头化学。

[0388] 将所得的肽缀合物经皮下、静脉内、口服施用至人或动物、或直接注射到关节内以治疗疾病。所述肽不是经由靶向机制从可检测剂或活性剂特异性切割的。所述肽可通过如分解代谢等机制来降解,释放出经修饰或未经修饰的其天然形式的药物(Singh,Luisi和Pak,Pharm Res 32:3541-3571(2015))。在仍然完整,或者部分或完全地被降解、代谢或分解代谢的同时,所述肽药物缀合物发挥其药理学活性。

[0389] 实施例20

[0390] 具有可切割的接头的肽复合物

[0391] 该实施例描述了制备具有可切割的接头的肽缀合物。重组表达或化学合成本公开的肽。经由接头复合、缀合或融合的肽和药物用式肽-A-B-C-药物描述,其中所述接头是A-B-C。A是稳定的酰胺键,其例如通过使肽上的胺与含有四氟苯基(TFP)酯或NHS酯的接头进行反应而形成。A还可以是稳定的氨基甲酸酯接头,其例如通过使肽上的胺与咪唑氨基甲酸酯活性中间体(通过CDI与接头上的羟基反应形成)进行反应而形成。A还可以是稳定的仲胺键,其例如通过肽上的胺与接头上的醛或酮基团的还原烷基化而形成。A还可以是使用接头中的马来酰亚胺或溴乙酰胺与肽中的硫醇形成的稳定的硫醚接头、三唑接头、稳定的脞接头或氧杂吡啶接头。B是 $(-\text{CH}_2-)_x$ 或短PEG $(-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-)_x$ (x 是0-20)或其他间隔子或无间隔子。C是药物上的羟基或羧酸的酯键,或者设计用于水解切割的碳酸酯、脞或酰脞。通过改变包括碳长度 $(-\text{CH}_2-)_x$ 、空间位阻(包括相邻的侧基团如甲基、乙基、环)、亲水性或疏水性在内的酯周围的局部环境来改变切割的水解速率。水解速率受局部pH(如在身体的某些区室中或细胞(如内体和溶酶体)的或患病组织的更低pH)的影响。C是pH敏感基团,如脞或脞键。可替代地,C是被设计为通过还原释放的二硫键,如谷胱甘肽。可替代地,C(或A-B-C)是用于酶可切割的肽键设计。任选地,包括自我牺牲基团(如pABC)以在切割后引起游离的未经修饰的药物的释放(Antibody-Drug Conjugates:Design,Formulation,and Physicochemical Stability,Singh,Luisi,and Pak.Pharm Res(2015)32:3541-3571)。所述接头被酶如酯酶、基质金属蛋白酶、组织蛋白酶(如组织蛋白酶B)、葡萄糖醛酸酶、蛋白酶或凝血酶切割。可替代地,设计用于切割的键在A处而不是在C处,并且C可以是稳定的键或可切割的键。可替代的设计是在A和C处具有稳定的接头(如酰胺或氨基甲酸酯)并且在B中具有可切割的接头(如二硫键)。还原速率通过局部效应(如来自甲基或乙基基团的空间位阻)或者调节疏水性/亲水性来调节。

[0392] 将所得的肽缀合物经皮下、静脉内、口服施用至人或动物、或直接注射到关节内以

治疗疾病。

[0393] 实施例21

[0394] 乙酰水杨酸肽复合物

[0395] 该实施例描述了使用乳酸接头将乙酰水杨酸缀合至肽。缀合物产生自(R,S)-乙酰水杨酸、乳酸和肽的混合物:

[0396] 然后使以上所述的乙酰水杨酸-乳酸接头缀合物与胱氨酸密集肽的赖氨酸或N末端进行反应,以产生乙酰水杨酸-乳酸-肽缀合物。胱氨酸密集肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽。

[0397] 目前将乙酰水杨酸作为对映体混合物给药,其中具有单个外消旋立体中心的对映体是非常难以分离的。如在反应方案(I)中,通过添加手性接头(如L-乳酸)产生具有两个手性中心的非对映体。由于非对映体易于分离,因此可在缀合至胱氨酸密集肽之前纯化复合、缀合或融合至乳酸接头的乙酰水杨酸的活性对映体。化学合成可使用本领域已知的任何缀合技术,如Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques(Elsevier Inc.,第3版,2013)中以及Vyas,Trivedi和Chaturvedi在“Ketorolac-dextran conjugates:synthesis,in vitro,and in vivo evaluation:”Acta Pharm.57(2007)441-450中描述的。缀合物可展示出抗炎活性或者游离的乙酰水杨酸从所述缀合物中释放以提供抗炎活性。所述游离的乙酰水杨酸可由发生在施用后的水解产生,如在酯键处的水解。通过含有软骨归巢肽的缀合物的给药,可实现比通过乙酰水杨酸的单独全身给药所实现的更高的递送至关节的乙酰水杨酸的AUC。

[0398] 可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0399] 实施例22

[0400] 布洛芬肽复合物

[0401] 该实施例描述了使用PEG接头将布洛芬缀合至肽。使用布洛芬和PEG接头产生缀合物,其形成可水解的酯键,如Nayak和Jain在“In vitro and in vivo study of poly(ethylene glycol)complexed,conjugated,or fused ibuprofen to extend the duration of action,”Scientia Pharmaceutica,2011,79:359-373中描述的。费歇尔酯化用于将布洛芬与短PEG(例如,与三甘醇)缀合,以产生布洛芬-酯-PEG-OH。

[0402] 在如上所示制备PEG-布洛芬缀合物之后,用N,N'-二琥珀酰亚胺基碳酸酯(DSC)激活PEG的羟基部分以形成布洛芬-酯-PEG-琥珀酰亚胺基碳酸酯,使其然后与胱氨酸密集肽的赖氨酸或N末端反应以形成布洛芬-酯-PEG-肽缀合物。胱氨酸密集肽选自序列SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。缀合物可展示出抗炎活性或者游离的布洛芬从所述缀合物中释放以提供抗炎活性。所述游离的布洛芬可由发生在施用后的水解产生,如在酯键处的水解。

[0403] 将布洛芬-肽缀合物施用至有需要的受试者。所述受试者可以是人或非人动物。

[0404] 可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。可使用乙酰水杨酸制备相似的肽-药物缀合物。

[0405] 实施例23

[0406] 地塞米松肽复合物

[0407] 该实施例描述了将地塞米松与本公开的肽复合的不同方法。重组表达SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任何一个的肽。使用二羧酸接头,易于将地塞米松化学缀合至本公开的肽。通过首先通过使地塞米松与琥珀酸酐反应将地塞米松转化为半琥珀酸酯来制造肽-地塞米松缀合物。然后,在N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)存在下,使用二环己基碳二亚胺(DCC)或1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC),将所述半琥珀酸酯转化为含有活性酯的琥珀酸羧酸。然后使该活性酯与胱氨酸密集肽的赖氨酸或N末端进行反应,以产生地塞米松-羧酸-肽缀合物。可使用如在Pouyani和Prestwich的“Functionalized derivatives of hyaluronic acid oligosaccharides:drug carriers and novel biomaterials”Bioconjugate Chemistry 1994,5,339-347,以及Greg Hermanson的Bioconjugate Techniques(Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些方法。

[0408] 通过使用标准偶联试剂化学将地塞米松与本公开的肽偶联来制备肽-地塞米松缀合物。例如,通过使地塞米松半戊二酸与1.05摩尔当量的1,1'-羰基二咪唑在惰性气氛中在无水DMSO中进行反应来制造地塞米松缀合物。30分钟后,将过量的在无水DMSO中的地塞米松与两摩尔当量的无水三甲胺一起添加。生成肽-地塞米松缀合物的N-羟基琥珀酰亚胺酯以形成贮存稳定的中间体,将该贮存稳定的中间体用于随后与含胺的载体进行反应。通过电喷雾质谱法(ES-MS)在10ppm误差内验证N末端地塞米松-肽缀合物(SEQ ID NO:108B)。

[0409] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。使用上述方法使本公开的任何序列(包括SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263)的肽与地塞米松缀合。

[0410] 可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0411] 本公开的任何序列的任何肽都可与地塞米松复合、缀合或融合。

[0412] 实施例24

[0413] 单丙酸倍氯米松肽缀合物

[0414] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至单丙酸倍氯米松。经由二羧酸接头,易于将单丙酸倍氯米松复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。所述二羧酸接头是直链二羧酸(如琥珀酸)或相关的环酸酐(如琥珀酸酐)。与酸酐的反应可在简单的条件下进行。例如,单丙酸倍氯米松与五摩尔当量的戊二酸酐的反应在室温下在无水吡啶中进行。使用标准碳二亚胺偶联方法可发生与二羧酸的反应。例如,单丙酸倍氯米松与一摩尔当量的二甲基琥珀酸、一摩尔当量的1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(或另一种碳二亚胺)、以及0.2摩尔当量的40-二甲基氨基吡啶进行反应。

[0415] 使用与如实施例18中所述相同的方法调节肽-单丙酸倍氯米松缀合物的水解速

率,防止过早切割并确保肽-单丙酸倍氯米松缀合物的单丙酸倍氯米松在软骨中积聚。

[0416] 通过使用标准偶联试剂化学将单丙酸倍氯米松与本公开的肽偶联来制备肽-单丙酸倍氯米松缀合物。通过首先通过使单丙酸倍氯米松与琥珀酸酐反应将单丙酸倍氯米松转化为半琥珀酸酯来制造肽-单丙酸倍氯米松缀合物。然后,在N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)存在下,使用二环己基碳二亚胺(DCC)或1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC),将所述半琥珀酸酯转化为含有活性酯的琥珀酸羧酸。然后使该活性酯与肽的赖氨酸或N末端进行反应,以产生单丙酸倍氯米松-羧酸-肽缀合物。可使用如在Pouyani和Prestwich的“Functionalized derivatives of hyaluronic acid oligosaccharides:drug carriers and novel biomaterials”Bioconjugate Chemistry 1994,5,339-347,以及Greg Hermanson的Bioconjugate Techniques(Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些方法。

[0417] 通过使用标准偶联试剂化学将单丙酸倍氯米松与本公开的肽偶联来制备肽-单丙酸倍氯米松缀合物。例如,通过使单丙酸倍氯米松半戊二酸与1.05摩尔当量的1,1'-羰基二咪唑在惰性气氛中在无水的DMSO中进行反应来制造单丙酸倍氯米松缀合物。30分钟后,将过量的在无水的DMSO中的单丙酸倍氯米松与两摩尔当量的无水三甲胺一起添加。生成肽-单丙酸倍氯米松缀合物的N-羟基琥珀酰亚胺酯以形成贮存稳定的中间体,将该贮存稳定的中间体用于随后与含胺的载体进行反应。

[0418] 经由二羧酸接头,也易于将倍氯米松单丙酸酯复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。所述二羧酸接头是直链二羧酸(如琥珀酸)或相关的环酸酐(如琥珀酸酐)。与酸酐的反应可在简单的条件下进行。例如,单丙酸倍氯米松与五摩尔当量的戊二酸酐的反应在室温下在无水的吡啶中进行。使用标准碳二亚胺偶联方法可发生与二羧酸的反应。例如,单丙酸倍氯米松与一摩尔当量的二甲基琥珀酸、一摩尔当量的1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(或另一种碳二亚胺)、以及0.2摩尔当量的40-二甲基氨基吡啶进行反应。将肽-单丙酸倍氯米松缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨和/或肾。所述受试者是人或动物,并且在软骨或肾组织中具有炎症。施用肽-单丙酸倍氯米松缀合物后,所述软骨和/或肾炎症得到缓解。

[0419] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。

[0420] 使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0421] 实施例25

[0422] 去异丁酰基环索奈德肽复合物

[0423] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至去异丁酰基环索奈德。环索奈德是在体内代谢为活性代谢物去异丁酰基环索奈德的前药。经由酯接头将去异丁酰基环索奈德缀合至肽,在水解后,所释放的药物将是去异丁酰基环索奈德,正如全身施用环索奈德后活性代谢物去异丁酰基环索奈德存在并具有活性那样。经由二羧酸接头,易于将去异丁酰基环索奈德复合、缀合或融合至

本文所公开的任何肽。所述二羧酸接头是直链二羧酸(如琥珀酸)或相关的环酸酐(如琥珀酸酐)。与酸酐的反应可在简单的条件下进行。例如,去异丁酰基环索奈德与五摩尔当量的戊二酸酐的反应在室温下在无水吡啶中进行。使用标准碳二亚胺偶联方法可发生与二羧酸的反应。例如,去异丁酰基环索奈德与一摩尔当量的二甲基琥珀酸、一摩尔当量的1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(或另一种碳二亚胺)、以及0.2摩尔当量的40-二甲基氨基吡啶进行反应。

[0424] 使用与如实施例18中所述相同的方法调节肽-去异丁酰基环索奈德缀合物的水解速率,防止过早切割并确保肽-去异丁酰基环索奈德缀合物的去异丁酰基环索奈德在软骨中积聚。

[0425] 经由二羧酸接头,也易于将去异丁酰基环索奈德复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。所述二羧酸接头是直链二羧酸(如琥珀酸)或相关的环酸酐(如琥珀酸酐)。与酸酐的反应可在简单的条件下进行。例如,去异丁酰基环索奈德与五摩尔当量的戊二酸酐的反应在室温下在无水吡啶中进行。使用标准碳二亚胺偶联方法可发生与二羧酸的反应。例如,去异丁酰基环索奈德与一摩尔当量的二甲基琥珀酸、一摩尔当量的1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(或另一种碳二亚胺)、以及0.2摩尔当量的40-二甲基氨基吡啶进行反应。将肽-去异丁酰基环索奈德缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨和/或肾。所述受试者是人或动物,并且在软骨或肾组织中具有炎症。任选地,所述受试者患有骨关节炎、类风湿性关节炎、强直性脊柱炎、狼疮关节炎、系统性红斑狼疮或狼疮肾炎。施用肽-去异丁酰基环索奈德缀合物后,所述软骨和/或肾炎症得到缓解。

[0426] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是SED ID NO:114、SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:109的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。

[0427] 使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0428] 实施例26

[0429] 去异丁酰基环索奈德肽复合物

[0430] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至去异丁酰基环索奈德。环索奈德是在体内代谢为活性代谢物去异丁酰基环索奈德的前药。经由接头如酯、碳酸酯或氨基甲酸酯将去异丁酰基环索奈德缀合至肽,在水解后,所释放的药物可以是去异丁酰基环索奈德,正如全身施用环索奈德后活性代谢物去异丁酰基环索奈德存在并具有活性那样。经由稳定的或可切割的接头,易于将去异丁酰基环索奈德复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0431] 将肽-去异丁酰基环索奈德缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨和/或肾。所述受试者是人或动物,并且在软骨或肾组织中具有炎症。施用肽-去异丁酰基环索奈德缀合物后,所述软骨和/或肾炎症得到缓解。

[0432] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是SED ID NO:114、SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:109的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。

[0433] 使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0434] 实施例27

[0435] 肽-优特克单抗复合物

[0436] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至优特克单抗。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将优特克单抗复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。一个至八个肽与优特克单抗连接。

[0437] 将肽-优特克单抗缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有银屑病关节炎。施用肽-优特克单抗缀合物后,所述银屑病关节炎疾患得到缓解。

[0438] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。

[0439] 实施例28

[0440] 肽-枸橼酸托法替布(Xeljanz)复合物

[0441] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至枸橼酸托法替布。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将枸橼酸托法替布复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与枸橼酸托法替布连接。

[0442] 将肽-枸橼酸托法替布缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有类风湿性关节炎。施用肽-枸橼酸托法替布缀合物并且其归巢后,所述类风湿性关节炎疾患得到缓解。

[0443] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0444] 实施例29

[0445] 肽-IL-17抑制剂复合物

[0446] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至IL-17抑制剂。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc., 第3版,2013) 中描述的那些,易于将IL-17抑制剂复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0447] 将肽-IL-17抑制剂缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有强直性脊柱炎。施用肽-IL-17抑制剂缀合物并且其归巢后,所述强直性脊柱炎疾患得到缓解。

[0448] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0449] 实施例30

[0450] 肽-艾拉莫德复合物

[0451] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至艾拉莫德。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc., 第3版,2013) 中描述的那些,易于将艾拉莫德复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0452] 将肽-艾拉莫德缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有类风湿性关节炎。施用肽-艾拉莫德缀合物并且其归巢后,所述类风湿性关节炎疾患得到缓解。

[0453] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0454] 实施例31

[0455] 肽霉酚酸复合物

[0456] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至霉酚酸。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc., 第3版,2013) 中描述的那些,易于将霉酚酸复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0457] 将肽-霉酚酸缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有器官移植、感染、癌症或其他肾病症。施用肽-霉酚酸缀合物并且其归巢后,所述器官移植、感染、癌症、其他肾病症疾患得到缓解。

[0458] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0459] 实施例32

[0460] 肽-他克莫司复合物

[0461] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至他克莫司。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques(Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将他克莫司复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0462] 将肽-他克莫司缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有器官移植、任何其他肾疾病。施用肽-他克莫司缀合物并且其归巢后,所述器官移植、任何其他肾疾病疾患得到缓解。

[0463] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0464] 实施例33

[0465] 肽-苏金单抗复合物

[0466] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至苏金单抗。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques(Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将苏金单抗复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与苏金单抗连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0467] 将肽-苏金单抗缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有强直性脊柱炎。施用肽-苏金单抗缀合物并且其归巢后,所述强直性脊柱炎疾患得到缓解。

[0468] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0469] 实施例34

[0470] 肽-司卢库单抗复合物

[0471] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至司卢库单抗。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将司卢库单抗复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与司卢库单抗连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0472] 将肽-司卢库单抗缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有类风湿性关节炎、肾的免疫疾病。施用肽-司卢库单抗缀合物并且其归巢后,所述类风湿性关节炎、肾的免疫疾病疾患得到缓解。

[0473] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0474] 实施例35

[0475] 肽-阿尼鲁单抗复合物

[0476] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至阿尼鲁单抗。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将阿尼鲁单抗复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与阿尼鲁单抗连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0477] 将肽-阿尼鲁单抗缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有狼疮肾炎。施用肽-阿尼鲁单抗缀合物并且其归巢后,所述狼疮肾炎疾患得到缓解。

[0478] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0479] 实施例36

[0480] 肽-地诺单抗复合物

[0481] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至地诺单抗。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将地诺单抗复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与地诺单抗连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0482] 将肽-地诺单抗缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有骨质疏松症。施用肽-地诺单抗缀合物并且其归巢后,所述骨质疏松症疾患得到缓解。

[0483] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0484] 实施例37

[0485] 肽-利妥昔单抗复合物

[0486] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至利妥昔单抗。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将利妥昔单抗复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与利妥昔单抗连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0487] 将肽-利妥昔单抗缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨或肾。所述受试者是人或动物,并且具有类风湿性关节炎、肾移植。施用肽-利妥昔单抗缀合物并且其归巢后,所述类风湿性关节炎、肾移植疾患得到缓解。

[0488] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0489] 实施例38

[0490] 肽-奥马珠单抗复合物

[0491] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至奥马珠单抗。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将奥马珠单抗复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与奥马珠单抗连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0492] 将肽-奥马珠单抗缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有肾炎症。施用肽-奥马珠单抗缀合物并且其归巢后,所述肾炎症疾患得到缓解。

[0493] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ

ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0494] 实施例39

[0495] 肽-阿巴西普复合物

[0496] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至阿巴西普。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将阿巴西普复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与阿巴西普连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0497] 将肽-阿巴西普缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有类风湿性关节炎、狼疮肾炎、器官移植、局灶性节段性肾小球硬化。施用肽-阿巴西普缀合物并且其归巢后,所述类风湿性关节炎、狼疮肾炎、器官移植、局灶性节段性肾小球硬化疾患得到缓解。

[0498] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0499] 实施例40

[0500] 肽-羟考酮复合物

[0501] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至羟考酮。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将羟考酮复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0502] 将肽-羟考酮缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有软骨或肾相关性疼痛。施用肽-羟考酮缀合物并且其归巢后,所述软骨相关性疼痛疾患得到缓解。

[0503] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0504] 实施例41

[0505] 肽辣椒碱复合物

[0506] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:

133中的任一个的肽缀合至辣椒碱。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将辣椒碱复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0507] 将肽-辣椒碱缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有软骨相关性疼痛。施用肽-辣椒碱缀合物并且其归巢后,所述软骨或肾相关性疼痛疾患得到缓解。

[0508] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0509] 实施例42

[0510] 肽-GSK2193874复合物

[0511] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至GSK2193874。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将GSK2193874复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0512] 将肽-GSK2193874缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至GSK2193874。所述受试者是人或动物,并且具有软骨相关性疼痛。施用肽-GSK2193874缀合物并且其归巢后,所述软骨相关性疼痛疾患得到缓解。

[0513] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0514] 实施例43

[0515] 肽BIIB023复合物

[0516] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至BIIB023。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将BIIB023复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与BIIB023连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0517] 将肽-BIIB023缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有狼疮肾炎或类风湿性关节炎。施用肽-BIIB023缀合物并且其归巢后,所述狼疮肾炎或类风湿性关节炎疾患得到缓解。

[0518] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0519] 实施例44

[0520] 肽-阿那白滞素复合物

[0521] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合或融合至阿那白滞素。任选地,使用接头将肽缀合至阿那白滞素。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc., 第3版,2013)中描述的那些,易于将阿那白滞素复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与阿那白滞素连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0522] 将肽-阿那白滞素缀合物或融合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物或融合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有狼疮肾炎或类风湿性关节炎。施用肽-阿那白滞素缀合物或融合物并且其归巢后,所述狼疮肾炎或类风湿性关节炎疾患得到缓解。

[0523] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0524] 实施例45

[0525] 肽-IGF-1复合物

[0526] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至IGF-1。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc., 第3版,2013)中描述的那些,易于将IGF-1复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与IGF-1连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0527] 将肽-IGF-1缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有肾癌或关节炎。施用肽-IGF-1缀合物并且其归巢后,所述肾癌或关节炎疾患得到缓解。

[0528] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0529] 实施例46

[0530] 肽-洛莫索珠单抗复合物

[0531] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至洛莫索珠单抗。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将洛莫索珠单抗复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与洛莫索珠单抗连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0532] 将肽-洛莫索珠单抗缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有骨质疏松症。施用肽-洛莫索珠单抗缀合物并且其归巢后,所述骨质疏松症疾患得到缓解。

[0533] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0534] 实施例47

[0535] 肽-ZVAD-fmk复合物

[0536] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至ZVAD-fmk。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将ZVAD-fmk复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与ZVAD-fmk连接。

[0537] 将肽-ZVAD-fmk缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有软骨移植、关节炎、外科手术干预、软骨修复外科手术。施用肽-ZVAD-fmk缀合物并且其归巢后,所述软骨移植、关节炎、外科手术干预、软骨修复外科手术疾患得到缓解。

[0538] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0539] 实施例48

[0540] 肽-S-甲基异硫脲复合物

[0541] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至S-甲基异硫脲。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将S-甲基异硫脲复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0542] 将肽-S-甲基异硫脲缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、

被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有关节炎外科手术、肾铁负载、肾缺血再灌注损伤或急性肾损伤。施用肽-S-甲基异硫脲缀合物并且其归巢后,所述关节炎外科手术、肾铁负载、肾缺血再灌注损伤或急性肾损伤疾患得到缓解。

[0543] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0544] 实施例49

[0545] 肽-P188复合物

[0546] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至P188。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将P188复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0547] 将肽-P188缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有关节炎外科手术。施用肽-P188缀合物并且其归巢后,所述关节炎外科手术疾患得到缓解。

[0548] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0549] 实施例50

[0550] 肽-阿仑膦酸盐复合物

[0551] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至阿仑膦酸盐。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将阿仑膦酸盐复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0552] 将肽-阿仑膦酸盐缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有骨侵蚀。施用肽-阿仑膦酸盐缀合物并且其归巢后,所述骨侵蚀疾患得到缓解。

[0553] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药

物缀合物。

[0554] 实施例51

[0555] 肽-MIP-3 α 复合物

[0556] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至MIP-3 α 。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将MIP-3 α 复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与MIP-3 α 连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0557] 将肽-MIP-3 α 缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有软骨和骨的关节损伤、修复和再生。施用肽-MIP-3 α 缀合物并且其归巢后,所述软骨和骨的关节损伤、修复和再生疾患得到缓解。

[0558] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0559] 实施例52

[0560] 肽-BMP-2复合物

[0561] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至BMP-2。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将BMP-2复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与BMP-2连接。可替代地,该实施例的肽-活性剂可表达为融合蛋白。

[0562] 将肽-BMP-2缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有关节修复。施用肽-BMP-2缀合物并且其归巢后,所述关节修复疾患得到缓解。

[0563] 所述肽也可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0564] 实施例53

[0565] 肽-淫羊藿苷复合物

[0566] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至淫羊藿苷。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将淫羊藿苷

复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0567] 将肽-淫羊藿苷缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有关节修复。施用肽-淫羊藿苷缀合物并且其归巢后,所述关节修复疾患得到缓解。

[0568] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0569] 实施例54

[0570] 肽-卡托普利复合物

[0571] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至卡托普利。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将卡托普利复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0572] 将肽-卡托普利缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有糖尿病性肾病。施用肽-卡托普利缀合物并且其归巢后,所述糖尿病性肾病疾患得到缓解。

[0573] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0574] 实施例55

[0575] 肽-托法替尼复合物

[0576] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至托法替尼。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将托法替尼复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。一个至八个肽与托法替尼连接。

[0577] 将肽-托法替尼缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨。所述受试者是人或动物,并且具有类风湿性关节炎和肾移植、强直性脊柱炎。施用肽-托法替尼缀合物并且其归巢后,所述类风湿性关节炎和肾移植、强直性脊柱炎疾患得到缓解。

[0578] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任

何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0579] 实施例56

[0580] 肽-富马酸二甲酯复合物

[0581] 该实施例描述了SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽缀合至富马酸二甲酯。经由标准化学,如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,易于将富马酸二甲酯复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。可替代地,可通过将硫醇(在接头的肽上)迈克尔加成到富马酸二甲酯来合成肽-富马酸二甲酯缀合物,如Schmidt等人(Bioorg Med Chem.2007年1月1日;15(1):333-42.Epub 2006年9月29日。)所述的。

[0582] 将肽-富马酸二甲酯缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至肾。所述受试者是人或动物,并且具有肾纤维化、银屑病关节炎、类风湿性关节炎。施用肽-富马酸二甲酯缀合物并且其归巢后,所述肾纤维化、银屑病关节炎、类风湿性关节炎疾患得到缓解。

[0583] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0584] 实施例57

[0585] 肽和肽复合物的关节内施用

[0586] 该实施例说明了本公开的肽或肽缀合物的关节内施用。重组表达或化学合成本公开的肽。在一些情况下,随后将所述肽复合、缀合或融合至可检测剂或活性剂。经由关节内施用,将所述肽或肽缀合物施用至有需要的受试者。由于所述肽或肽缀合物的小尺寸,并且由于所述肽或肽缀合物与软骨组分的结合,软骨被所述肽或肽缀合物穿透。所述肽或肽缀合物与软骨结合,并且由于这种结合,所述肽或肽缀合物在软骨中的停留时间更长。任选地,所述注入的材料聚集,结晶或者形成复合物,进一步延长了贮库效应并有助于更长的停留时间。

[0587] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0588] 实施例58

[0589] 骨关节炎的治疗

[0590] 该实施例描述了使用本公开的肽治疗骨关节炎的方法。该方法用于治疗与骨关节

炎相关的急性和/或慢性症状。重组表达或化学合成本公开的肽,然后将所述肽直接使用或复合、缀合或融合至抗炎化合物(如阿司匹林、去异丁酰基环索奈德或苏金单抗)。将所得的肽或肽-药物缀合物在药物组合物中经皮下、静脉内、或口服施用、或直接注射到患者的关节内,并且靶向软骨。可物理地或化学地修饰配制品以增加在软骨中暴露的时间。向人或动物施用一种或多种抗炎肽缀合物。

[0591] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0592] 实施例59

[0593] 软骨退化的治疗

[0594] 该实施例描述了使用本公开的肽治疗和/或预防软骨退化的方法。该方法用于治疗与软骨退化相关的急性和/或慢性症状。软骨的进行性退化或变薄难以治疗,部分因为分子(如小分子药物和抗体)一般无法到达无血管软骨。本公开的肽针对其归巢和/或天然活性而使用,或者经突变以生成活性,如MMP蛋白酶抑制。将所述肽重组表达或化学合成,然后直接使用或复合、缀合或融合至细胞外基质靶向活性剂,如MMP活性抑制剂或抗细胞凋亡剂(例如,骨保护素、洛莫索珠单抗、P188、ZVAD-fmk、槲皮素、达沙替尼、富马酸二甲酯、硼替佐米、卡非佐米或纳威托克斯)。将所得的肽或肽-药物缀合物在药物组合物中经皮下、静脉内、或口服施用、或直接注射到患者的关节内,并且靶向细胞外基质。向人或动物施用一种或多种细胞外基质靶向缀合物。

[0595] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0596] 实施例60

[0597] 软骨损伤的治疗

[0598] 该实施例描述了使用本公开的肽治疗软骨损伤的方法。重组表达或化学合成本公开的肽,然后将所述肽直接使用或复合、缀合或融合至治疗性化合物(如本文描述的那些,包括但不限于BMP-2、BMP-7、BMP-9、BMP-13、PDGF、PTH、PTHrP、IL-8、MIP-3 α)。将所得的肽或肽-药物缀合物在药物组合物中施用至患者,并且靶向软骨。向人或动物施用一种或多种治疗性化合物-肽缀合物。

[0599] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。

所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0600] 实施例61

[0601] 类风湿性关节炎的治疗

[0602] 该实施例描述了用于治疗类风湿性关节炎的方法。该方法用于治疗与类风湿性关节炎相关的急性和/或慢性症状。重组表达或化学合成本公开的肽,然后将所述肽直接使用或复合、缀合或融合至抗炎化合物(如阿达木单抗、赛妥珠单抗、戈利木单抗、沙利度胺、来那度胺、泊马度胺、己酮可可碱、安非他酮或去异丁酰基环索奈德)。任选地,当直接使用肽时,所述肽可例如结合或抑制离子通道如Kv 1.3。将所得的肽或肽-药物缀合物在药物组合中施用至患者,并且靶向软骨。将一种或多种抗炎化合物-肽缀合物经皮下、静脉内、或口服施用至人或动物、或直接注射到关节内。

[0603] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0604] 实施例62

[0605] 痛风的治疗

[0606] 该实施例描述了使用本公开的肽治疗痛风的方法。该方法用于治疗与痛风相关的急性和/或慢性症状。将本公开的肽表达并在药物组合中作为痛风的治疗剂施用至患者。重组或化学合成本公开的肽,然后将所述肽直接使用或复合、缀合或融合至培戈洛酶以治疗软骨病症。重组或化学合成本公开的肽,然后将所述肽直接使用或复合、缀合或融合至丙磺舒以治疗肾病症。将所述肽在药物组合中施用至患者,并将所述肽靶向受痛风影响的软骨或肾。将一种或多种肽经皮下、静脉内、或口服施用至人或动物、或直接注射到关节内。

[0607] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0608] 实施例63

[0609] 疼痛的治疗或管理

[0610] 该实施例描述了用于治疗或管理与软骨损伤或病症相关的疼痛的方法。该方法用

于治疗与软骨损伤或病症相关的急性和/或慢性症状。将本公开的肽表达并在药物组合物中作为疼痛(由于本文所述的损伤或其他软骨或关节疾患引起)的治疗剂施用至患者。本公开的肽抑制离子通道,如Nav 1.7。重组表达或化学合成肽,其中所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263。可替代地,SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽经突变以维持软骨归巢功能,但添加或增加离子通道抑制,如对Nav 1.7的抑制。在表达或合成后,将所述肽直接使用或复合、缀合或融合至麻醉剂(例如,羟考酮)、非麻醉性镇痛药、天然抗刺激剂(辣椒碱)或疼痛受体通道抑制剂(如TRPV4抑制剂GSK2193874)。在施用肽后,所述肽靶向受疼痛影响的软骨。将一种或多种肽经皮下、静脉内、或口服施用至人或动物、或直接注射到关节内。

[0611] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0612] 实施例64

[0613] 仅用肽治疗或管理疼痛

[0614] 该实施例描述了用于治疗或管理与软骨损伤或病症相关的疼痛的方法。该方法用于治疗与软骨损伤或病症相关的急性和/或慢性症状。将本公开的肽表达并在药物组合物中作为疼痛(由于本文所述的损伤或其他软骨或关节疾患引起)的治疗剂施用至患者。本公开的肽抑制离子通道,如Nav 1.7。重组表达或化学合成肽,其中所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263。可替代地,SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽经突变以维持软骨归巢功能,但添加或增加离子通道抑制,如对Nav 1.7的抑制。在表达或合成后,将所述肽直接使用。在施用肽后,所述肽靶向受疼痛影响的软骨。将一种或多种肽经皮下、静脉内、或口服施用至人或动物、或直接注射到关节内。

[0615] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:

200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。

[0616] 实施例65

[0617] 软骨肉瘤的治疗

[0618] 该实施例说明了使用本公开的肽治疗软骨肉瘤。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物(如达沙替尼)后直接使用。将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为软骨肉瘤的治疗剂施用至受试者。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射到关节内。所述肽或肽缀合物靶向受软骨肉瘤影响的软骨。

[0619] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0620] 实施例66

[0621] 脊索瘤的治疗

[0622] 该实施例说明了使用本公开的肽治疗脊索瘤。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物(如达沙替尼)后直接使用。将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为脊索瘤的治疗剂施用至受试者。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射到关节内。所述肽或肽缀合物靶向受脊索瘤影响的软骨。

[0623] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0624] 实施例67

[0625] 快速疼痛缓解的治疗

[0626] 该实施例说明了用本公开的肽或肽缀合物对针对类风湿性关节炎或骨关节炎治疗的患者中的快速疼痛缓解。重组表达或化学合成本公开的肽,然后经由NHS酯将肽的N末端复合、缀合或融合至活性剂以产生肽-活性剂缀合物。在一些方面,所述活性剂是如来自表4或表5的肾治疗剂。在一些情况下,将所述肽单独施用至受试者。

[0627] 将所述肽或肽-活性剂缀合物施用至有需要的受试者。所述受试者是人或非人动

物。所述有需要的受试者患有类风湿性关节炎或骨关节炎。经由静脉内施用递送所述肽或肽缀合物。施用后,所述肽或肽缀合物快速归巢至软骨。所述受试者经历五分钟至一小时内的快速疼痛缓解,并且疼痛缓解可持续长达3小时以上。

[0628] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0629] 实施例68

[0630] 系统性红斑狼疮的治疗

[0631] 该实施例说明了使用本发明的肽或肽缀合物治疗系统性红斑狼疮,包括称为狼疮肾炎和/或狼疮关节炎的疾病形式。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合或融合至荧光团或治疗性化合物(如阿巴西普或BIIB023或去异丁酰基环索奈德)后直接使用。

[0632] 将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为狼疮的治疗剂施用至受试者。所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射。所述肽或肽缀合物靶向受狼疮肾炎影响的肾和/或受狼疮关节炎影响的软骨。所述受试者的狼疮疾患得到减缓、减轻或改善。

[0633] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0634] 实施例69

[0635] 强直性脊柱炎的治疗

[0636] 该实施例说明了使用本公开的肽或肽缀合物治疗强直性脊柱炎。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合或融合至荧光团或治疗性化合物(如阿巴西普或BIIB023或去异丁酰基环索奈德)后直接使用。

[0637] 将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为强直性脊柱炎的治疗剂施用至受试者。所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一

个。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射。所述肽或肽缀合物靶向受强直性脊柱炎影响的软骨。所述受试者的强直性脊柱炎疾患得到改善。

[0638] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0639] 实施例70

[0640] 急性肾损伤(AKI)的治疗

[0641] 该实施例说明了使用本公开的肽或肽缀合物治疗急性肾损伤(AKI)。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物(如如来自表4或表5的肾治疗剂)后直接使用。

[0642] 将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为急性肾损伤(AKI)的治疗剂施用至受试者。所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射到关节内。所述肽或肽缀合物靶向受急性肾损伤(AKI)影响的软骨。

[0643] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0644] 实施例71

[0645] 慢性肾疾病(CKD)的治疗

[0646] 该实施例说明了使用本公开的肽或肽缀合物治疗慢性肾疾病(CKD)。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物(如来自表4或表5的肾治疗剂)后直接使用。

[0647] 将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为慢性肾疾病(CKD)的治疗剂施用至受试者。所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述

药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射到关节内。所述肽或肽缀合物靶向受慢性肾疾病 (CKD) 影响的软骨。

[0648] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文 (例如实施例19和20) 所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0649] 实施例72

[0650] 高血压性肾损害的治疗

[0651] 该实施例说明了使用本公开的肽或肽缀合物治疗高血压性肾损害。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物 (如如来自表4或表5的肾治疗剂) 后直接使用。

[0652] 将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为高血压性肾损害的治疗剂施用至受试者。所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射到关节内。所述肽或肽缀合物靶向受高血压性肾损害影响的软骨。

[0653] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文 (例如实施例19和20) 所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0654] 实施例73

[0655] 糖尿病性肾病的治疗

[0656] 该实施例说明了使用本公开的肽或肽缀合物治疗糖尿病性肾病。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物 (如如来自表3或表4的肾治疗剂) 后直接使用。

[0657] 将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为糖尿病性肾病的治疗剂施用至受试者。所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射到关节内。所述肽或肽缀合物靶向受糖尿

病性肾病影响的软骨。

[0658] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0659] 实施例74

[0660] 肾纤维化的治疗

[0661] 该实施例说明了使用本公开的肽或肽缀合物治疗肾纤维化。重组表达或化学合成本公开的肽,并将所述肽在进行放射标记后或者在缀合至荧光团或治疗性化合物(如来自表3或表4的肾治疗剂)后直接使用。

[0662] 将所述肽或肽缀合物在药物组合物中作为肾纤维化的治疗剂施用至受试者。所述肽选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的肽中的任一个。将一种或多种本公开的肽或肽缀合物施用至受试者。受试者可以是人或动物。将所述药物组合物经皮下、静脉内、口服施用、或直接注射到关节内。所述肽或肽缀合物靶向受肾纤维化影响的软骨。

[0663] 所述肽可以是SEQ ID NO:115的肽。所述肽可以是SEQ ID NO:234的肽。所述肽也可以是SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133中的任一个的肽。所述肽可以是具有选自SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的序列的任何肽。可使用如本文(例如实施例19和20)所述的可切割的或稳定的接头来制造此类肽-药物缀合物。

[0664] 实施例75

[0665] 基于多重序列比对的肽变体

[0666] 该实施例说明了使用多重序列比对来设计具有增加的稳定性和降低的免疫原性的肽变体。使用R语言和“msa”软件包生成比对,所述“msa”软件包编码特异于多重比对的R语言(Bodenhofer,U等人Bioinformatics,31(24):3997-3999(2015))。图6说明了SEQ ID NO:198-SEQ ID NO:215的多序列比对。所述比对鉴定了在给定位置处允许的或优选的氨基酸,并且提供了对于发现可生成并且可保留基本特性(如结构、功能、肽折叠、生物分布或稳定性)的新型肽变体的指导。SEQ ID NO:21和SEQ ID NO:87是基于上述多重序列比对的共有序列。SEQ ID NO:21是与SEQ ID NO:87相同的序列,但具有N末端“GS”。SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:222显示了肽序列,其中SEQ ID NO:87和SEQ ID NO:21共有序列适合SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示),具有或不具有N末端GS。SEQ ID NO:219-SEQ ID NO:222是变

体共有肽序列,包括在SEQ ID NO:87和SEQ ID NO:21共有序列家族中,所述变体共有序列包括具有改善的肽特性的变体。此外,基于用R残基取代K残基的能力,所述多重序列比对鉴定了作为可被生成并且可保留基本特性(如结构、功能、肽折叠、生物分布、或稳定性)的潜在肽变体的SEQ ID NO:22和SEQ ID NO:88的序列家族的肽。另外,所述多重序列比对将SEQ ID NO:104鉴定为比对序列内的保守区域,其至少部分地对于维持基本特性(如结构、功能、肽折叠、生物分布、结合、积聚、保留或稳定性)可能是重要的。本公开的序列内的其他保守区域可以是SEQ ID NO:227-SEQ ID NO:232中的任一个。

[0667] 实施例76

[0668] 肽免疫原性

[0669] 该实施例说明了肽的免疫原性的测试。NetMHC II版本2.3预测软件用于基于神经网络比对算法来鉴定免疫原性肽,该算法预测肽与MHC II类分子的结合。

[0670] 所述NetMHC II预测软件用于测定对DR、DQ和DP MHC II等位基因的推定的肽结合能力以及肽与MHC II分子之间相互作用的强度。表6显示了一些所选肽的所得的免疫原性评分。将强肽相比于弱肽的数量统计到每个主要MHC等位基因组(DR、DQ和DP)。另外,还统计了“独特的强核心”和“独特的弱核心”肽的数量。该数据用于预测不太可能在患者中诱导免疫原性应答的肽。例如,肽与等位基因结合的能力越强,它就越有可能在抗原呈递细胞中以MHC/肽组合被呈递,从而触发免疫应答,并且被预测与更少的等位基因结合的肽更有可能与给定的等位基因结合更弱,并且免疫原性应该更低。

[0671] 表6-肽的免疫原性评分

[0672]

SEQ ID NO:	强结合等位基因 (DR + DQ + DP)	独特的强核心肽	弱结合等位基因 (DR + DQ + DP)	独特的弱核心肽
149	1 + 0 + 0	1 + 0 + 0	7 + 1 + 0	7 + 2 + 0
52	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 1 + 3	6 + 1 + 1
53	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 1 + 3	6 + 2 + 1
54	1 + 0 + 0	2 + 0 + 0	5 + 1 + 3	7 + 1 + 1
55	1 + 0 + 0	2 + 0 + 0	6 + 1 + 3	5 + 1 + 1
56	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 1 + 3	6 + 2 + 1
57	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	5 + 1 + 3	7 + 2 + 1
63	0 + 0 + 1	0 + 0 + 1	7 + 4 + 1	8 + 6 + 2
66	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	5 + 4 + 1	5 + 4 + 2
128	1 + 0 + 0	1 + 0 + 0	7 + 1 + 0	7 + 1 + 0
134	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 0 + 3	6 + 0 + 1
135	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 1 + 3	6 + 1 + 1
136	1 + 0 + 0	2 + 0 + 0	5 + 0 + 3	7 + 0 + 1
137	1 + 0 + 0	2 + 0 + 0	6 + 0 + 3	5 + 0 + 1
138	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 1 + 3	6 + 1 + 1
139	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	5 + 1 + 3	7 + 1 + 1
145	0 + 0 + 1	0 + 0 + 1	7 + 4 + 1	8 + 6 + 2
148	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	5 + 4 + 1	5 + 5 + 2
109	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	2 + 0 + 0	2 + 0 + 0
110	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	6 + 2 + 1	5 + 3 + 2
111	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 2 + 1	3 + 2 + 1
112	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 2 + 1	3 + 3 + 1
113	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	4 + 2 + 1	3 + 3 + 2
114	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	2 + 2 + 1	1 + 4 + 2
115	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	2 + 2 + 1	2 + 4 + 2
118	0 + 0 + 1	0 + 0 + 1	7 + 2 + 1	4 + 5 + 2
126	0 + 0 + 0	0 + 0 + 0	5 + 2 + 1	4 + 3 + 2

[0673] 实施例77

[0674] 肽变体

[0675] 该实施例说明了与亲本肽序列相比具有增加的稳定性、降低的免疫原性区、以及用于分光光度报告的酪氨酸取代的变体肽序列的设计。基于来自实施例75的多重序列比对的信息和来自实施例76的免疫原性测试,鉴定了亲本肽序列SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的潜在突变或相应取代,所述突变或相应取代可导致具有增加的稳定性、降低的免疫原性或在270-280nm处增加的吸光度(如用于分光光度报告的至酪氨酸或色氨酸残基的取代)的肽。

[0676] 在SEQ ID NO:149中,残基N7具有脱酰胺的风险。基于对SEQ ID NO:198-SEQ ID NO:215的多序列比对,最佳降低这种风险的候选残基突变或相应取代是N7S和N7G。测定N7S更有可能产生具有期望特性(如折叠和稳定性)的肽,如通过比对中的匹配和具有高稳定性的肽(SEQ ID NO:206)中的保守存在所示。

[0677] 残基D18具有切割的风险。基于多重序列比对,最佳减少在D18处切割的候选残基突变或相应取代是D18E和D18Q。基于保留电荷,D18E是优先选择。

[0678] 残基M25具有氧化的风险。基于多重序列比对,最佳减少氧化的候选残基突变或相应取代是M25T和M25A。基于在每个突变或相应取代情况下的肽的免疫原性评分,测定M25T是更佳的突变或相应取代,因为与SEQ ID NO:108以及具有M25A的变体(其并未消除SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的亲本肽的预测的免疫原性)相比,它消除了免疫原性的重要来源。

[0679] 残基N32具有脱酰胺的风险,这至少部分是由于邻近残基S33导致的。然而,在实施例75的比对中,N32在结合Kv1.3的胱氨酸密集肽中是保守的,并且涉及受体结合(Peigneur, S., Biochemistry, 55 (32):2927-35 (2016))。对于某些应用来说,肽被设计为维持这种结合相互作用,并且对于其他应用来说,肽被设计为去除这种结合相互作用。为了维持功能性,基于多重序列比对的一个候选残基突变或相应取代是S33R,其将影响脱酰胺。然而,它导致预测的免疫原性评分增加。另一个候选残基突变或相应取代是S33G,但这可能导致更高的脱酰胺速率。如果N32发生突变,那么基于多重序列比对组合免疫原性评分的最佳候选残基突变或相应取代是N32Q,尽管它具有免疫原性的轻微增加。其他选项是N32A、N32S或N32T。可替代地,为了去除功能性,基于多重序列比对的候选突变或相应取代是N32A和N32L,它们是优先选择。

[0680] 对于用于分光光度报告的至酪氨酸的取代来说,最佳候选位置是T38Y(其在多重序列比对中具有最强的优先级,并且被发现于若干种稳定的肽(例如SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:210和SEQ ID NO:211)中)、L17Y和H36Y。然而,相对于DR等位基因,T38Y可能轻微增加免疫原性。用于分光光度吸光度的另一个选择是在位置17处用Trp取代Leu。

[0681] 基于上述分析,汇编了以下SEQ ID NO:149的潜在突变或相应取代的简短列表:N7S;D18E;M25T;N32Q、N32A、N32S、N32T、N32L、S33G和S33R(变体既保留功能又去除结合离子通道的功能);以及L17Y、H36Y和T38Y。

[0682] 表7A提供了相对于SEQ ID NO:149,使用这些突变或相应取代的多种组合的一些示例性序列。例如,可使用序列比对或其他方法,获得相对于位于本公开序列内的那些氨基酸残基(或相对于那些氨基酸残基)而言位于另一肽中的相应位置处的相应取代。

[0683] 表7A-SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的示例性序列变体

[0684]

SEQ ID NO :	突变	序列
149	亲本	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
52	N7S 、	GSGVPISVRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCINGRCHCTP

[0685]

	D18E、 M25T、 S33G	
53	N7S 、 D18E、 M25T、 N32Q	GSGVPISVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
54	N7S 、 D18E、 M25T、 S33R	GSGVPISVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCINRRCHCTP
55	D18E、 M25T	GSGVPINVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCINSRCHCTP
56	D18E、 M25T、 N32Q	GSGVPINVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
57	D18E、 M25T、 N32Q、 T38Y	GSGVPINVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
58	L17Y、 D18E、 M25T、 N32Q	GSGVPINVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
59	D18E、 M25T、 N32Q、 H36Y	GSGVPINVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
60	N7S 、 D18E、 M25T、 N32Q、 T38Y	GSGVPISVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
61	N7S 、 L17Y、 D18E、 M25T、 N32Q	GSGVPISVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
62	N7S 、 D18E、 M25T、 N32Q、 H36Y	GSGVPISVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
63	D18E、 M25T、	GSGVPINVRCRGSRDCEPCRRAGTRFGRCIASRCHCYP

[0686]

	N32A、 T38Y	
64	D18E、 M25T、 N32S、 T38Y	GSGVPINVRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCISSRCHCYP
65	D18E、 M25T、 N32T、 T38Y	GSGVPINVRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCITSRCHCYP
66	D18E、 M25T、 T38Y	GSGVPINVRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCINSRCHCYP
241	D18E、 M25T、 N32L	GSGVPINVRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCILSRCHCTP
242	D18E、 M25T、 N32L、 T38Y	GSGVPINVRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
243	D18E、 M25T、 N32L、 H36Y	GSGVPINVRCRGSRDCLPCRRAGTRFGRCILSRCYCTP
244	N32Q、	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIQSRCHCTP
245	N32A、	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIASRCHCTP
246	N32S、	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCISSRCHCTP
247	N32T、	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCITSRCHCTP
248	N32L	GSGVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCILSRCHCTP

[0687] 表7B相似地提供了在相应位置处使用这些突变或相应取代的多种组合的一些示例性序列,但应用于SEQ ID NO:128 (GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP;在本文中也公开为SEQ ID NO:205;SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205的GS版本在SEQ ID NO:46和SEQ ID NO:149中显示)。

[0688] 表7B-SEQ ID NO:128 (在本文中也公开为SEQ ID NO:205) 的示例性序列变体

[0689]

SEQ ID NO :	突变	序列
128	亲本	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRGINSRCHCTP
134	N5S、D16E、M23T、S31G	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINGRCHCTP
135	N5S、D16E、M23T、N30Q	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
136	N5S、D16E、M23T、S31R	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINRRCHCTP
137	D16E、M23T	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCTP
138	D16E、M23T、N30Q	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
139	D16E、M23T、N30Q、T36Y	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
140	L15Y、D16E、M23T、N30Q	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
141	D16E、M23T、N30Q、H34Y	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
142	N5S、D16E、M23T、N30Q、T36Y	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
143	N5S、L15Y、D16E、M23T、N30Q	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
144	N5S、D16E、M23T、N30Q、H34Y	GVPISVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
145	D16E、M23T、N30A、T36Y	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCIASRCHCYP
146	D16E、M23T、N30S、T36Y	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCISSRCHCYP
147	D16E、M23T、N30T、T36Y	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCITSRCHCYP
148	D16E、M23T、T36Y	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCYP
249	D16E、M23T、N30L	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCTP
250	D16E、M23T、N30L、T36Y	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
251	D16E、M23T、N30L、H34Y	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCYCTP
252	N30Q、	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRGCIQSRCHCTP
253	N30A、	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRGCIASRCHCTP

[0690]	SEQ ID NO	突变	序列
	:		
	254	N30S、	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCISSRCHCTP
	255	N30T、	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCITSRCHCTP
	256	N30L	GVPINVRCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCILSRCHCTP

[0691] 实施例78

[0692] 肽-布地奈德复合物

[0693] 该实施例描述了SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽缀合至布地奈德。经由标准化学,例如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,或者通过实施例23-26中描述的任何方法,易于将布地奈德复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0694] 将肽-布地奈德缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨和/或肾。所述受试者是人或动物,并且在软骨或肾组织中具有炎症。施用肽-布地奈德缀合物并且其归巢后,所述软骨和/或肾组织中的炎症得到缓解。

[0695] 实施例79

[0696] 肽-地塞米松复合物

[0697] 该实施例描述了SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽缀合至地塞米松。经由标准化学,例如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,或者通过实施例23-26中描述的任何方法,易于将地塞米松复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0698] 将肽-地塞米松缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨和/或肾。所述受试者是人或动物,并且在软骨或肾组织中具有炎症。施用肽-地塞米松缀合物并且其归巢后,所述软骨和/或肾组织中的炎症得到缓解。

[0699] 实施例80

[0700] 肽-曲安奈德复合物

[0701] 该实施例描述了SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽缀合至曲安奈德。经由标准化学,例如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,或者通过实施例23-26中描述的任何方法,易于将曲安奈德复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0702] 将肽-曲安奈德缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导

向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨和/或肾。所述受试者是人或动物,并且在软骨或肾组织中具有炎症。施用肽-曲安奈德缀合物并且其归巢后,所述软骨和/或肾组织中的炎症得到缓解。

[0703] 实施例81

[0704] 肽-去异丁酰基环索奈德复合物

[0705] 该实施例描述了SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:139、SEQ ID NO:242或SEQ ID NO:110中的任一个的肽缀合至去异丁酰基环索奈德。经由标准化学,例如但不限于Greg Hermanson在Bioconjugate Techniques (Elsevier Inc.,第3版,2013)中描述的那些,或者通过实施例23-26中描述的任何方法,易于将去异丁酰基环索奈德复合、缀合或融合至本文所公开的任何肽。

[0706] 将肽-去异丁酰基环索奈德缀合物施用至有需要的受试者,并且所述缀合物归巢、靶向、被导向至、被保留于、积聚于、迁移至和/或结合至软骨和/或肾。所述受试者是人或动物,并且在软骨或肾组织中具有炎症。施用肽-去异丁酰基环索奈德缀合物并且其归巢后,所述软骨和/或肾组织中的炎症得到缓解。

[0707] 所述肽可以是SEQ ID NO:52-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:241-SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240中的任一个。所述肽可以是SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个。

[0708] 实施例82

[0709] 肽合成的方法

[0710] 该实施例描述了SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的合成。

[0711] 使用固相肽合成(SPPS)产生SEQ ID NO:149的肽。从固相释放肽后,将肽纯化,然后在溶液中通过氧化进行折叠。通过反相色谱法进一步纯化折叠的肽,并冻干为TFA盐。最终的SEQ ID NO:149肽产物具有96.1%的纯度和4,301.7Da的质量,这证实了其作为SEQ ID NO:149的肽的身份。

[0712] 实施例83

[0713] 软骨归巢肽的全身放射自显影

[0714] 该实施例说明了在施用放射标记的肽后5分钟至48小时,肽归巢至小鼠软骨。在检查的每个时间点,在所有类型的软骨中发现了来自放射标记的肽的信号。如实施例2中所述,通过在N末端处甲基化赖氨酸来对每种肽进行放射标记。这样,所述肽可含有甲基赖氨酸或二甲基赖氨酸和甲基化的或二甲基化的氨基末端。经由尾静脉注射,在重20-25g的雌性哈伦无胸腺裸鼠中施用100nmol剂量的放射标记的肽。一式两份地进行该实验(n=2只动物/组)。在使动物安乐死并切片之前,允许每种放射标记的肽在动物内自由循环所述的时间段。

[0715] 如下进行全身放射自显影(WBA)矢状切片。在给药期结束时,将小鼠在己烷/干冰浴中冷冻,然后包埋在冷冻的羧甲基纤维素块中。制备全动物矢状薄片,使得薄的冷冻切片可用于成像。在成像前,允许切片在冷冻箱中干燥。对于放射自显影成像,将带上安装的薄

切片冷冻干燥,并将放射活性样品暴露于磷光成像板。使这些板显影,并将来自每个器官的信号(光密度测定法)归一化为在每只动物的心脏血液中发现的信号。组织中比该组织中预期来自血液的信号更暗的信号表明在区域、组织、结构或细胞中的积聚。

[0716] 图9示出了在施用100nmol的放射标记的SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46; SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽后3小时,来自小鼠的冷冻切片的放射自显影图像。图9A示出了在施用100nmol放射标记的SEQ ID NO:149的肽后3小时,小鼠的冷冻切片中的¹⁴C信号。所述¹⁴C信号鉴定小鼠软骨中的放射标记的肽分布。图9B示出了在施用100nmol放射标记的SEQ ID NO:149的肽后3小时,小鼠的不同冷冻切片中的¹⁴C信号。所述¹⁴C信号鉴定小鼠软骨中的放射标记的肽分布。

[0717] 表8显示了椎间盘(IVD)和膝关节中放射标记的SEQ ID NO:150和SEQ ID NO:149的肽的信号(作为血液的百分比)。因为肽可在五分钟内到达关节,所以来自肽或复合的、缀合的或融合的活性剂的治疗效果可快速开始。由于在48小时检测到的剂的持续存在和/或由于持久的药效学效应,治疗效果可以是持久的。

[0718] 表8-IVD和膝关节中放射标记的SEQ ID NO:150和SEQ ID NO:149的肽的信号(作为血液的百分比)

小时	SEQ ID NO: 150 IVD	SEQ ID NO: 149 IVD	SEQ ID NO: 149 膝
0.08		164	404
0.5		369	510
1		961	1114
3	1779	3213	4059
8		3777	4990
24	833	5391	2137
48		3320	843

[0720] 该数据说明了SEQ ID NO:150和SEQ ID NO:149的肽归巢至并积聚在动物软骨中。SEQ ID NO:149的肽是SEQ ID NO:150的肽的K至R变体。这些数据显示软骨归巢肽的K至R变体保留了它们的软骨归巢特性。

[0721] SEQ ID NO:218(GSGVPINVRSGSRDPSRRAGMRFGRSINSRSHSTP)是SEQ ID NO:149的线性化版本,其中通过将形成肽的二硫键的半胱氨酸残基突变为丝氨酸残基去除肽的打结支架,但保留该序列的其余部分。表9显示了来自椎间盘(IVD)中线性化的放射标记的SEQ ID NO:218肽的信号的定量(作为血液中信号的百分比)。

[0722] 表9-IVD中放射标记的SEQ ID NO:218的肽的信号(作为血液的百分比)

	3h结扎肾	3h完整肾	24h完整肾
IVD	117	177	104

[0724] SEQ ID NO:218的肽(SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽的线性化版本)归巢至软骨的程度比折叠的打结肽(SEQ ID NO:149)小得多。与线性化的SEQ ID NO:218的肽相比(表9),SEQ ID NO:149的折叠的打结的肽的信号在3小时处高约20倍,并且在24小时

处高约50倍(表8)。这些结果表明,除了一级序列或肽电荷的变化之外,归巢至软骨也可与构象或三级结构的变化有关。即,在一些情况下,与具有相同一级序列(突变的半胱氨酸残基除外)的非折叠的线性化肽相比,折叠的胱氨酸密集肽可以是示例性的软骨归巢肽。

[0725] 实施例84

[0726] 软骨归巢肽的荧光

[0727] 该实施例说明了在施用肽荧光团复合物后,肽归巢至小鼠软骨。将SEQ ID NO:149的肽化学缀合至菁5.5的一个分子,然后使用实施例11的方法成像。

[0728] 图5显示了在施用后24小时,施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团(SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149的肽的小鼠的白光图像和相应的全身荧光图像。图5A示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团(SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149的肽后24小时,小鼠的冷冻切片的图像。图5B示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团(SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149的肽后24小时,对应于图5A中显示的切片,小鼠中的荧光信号。图5C示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团(SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:46(在本文中也公开为SEQ ID NO:149)的肽后24小时,小鼠的不同冷冻切片的图像。图5D示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团(SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149的肽后24小时,对应于图5C中显示的切片,小鼠中的荧光信号。图5E示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团(SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的肽后24小时,小鼠的不同冷冻切片的图像。图5F示出了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团(SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:149的肽后24小时,对应于图5E中显示的切片,小鼠中的荧光信号。

[0729] 图8显示了在施用10nmol缀合至Cy5.5荧光团(SEQ ID NO:149A)的SEQ ID NO:108肽后,来自第一小鼠的分离的后肢和来自第二小鼠的分离的后肢的IVIS荧光成像。图8A显示了在肽施用后3小时来自移除了皮肤的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8B显示了在肽施用后3小时来自移除了肌肉的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8C显示了在肽施用后24小时来自移除了皮肤的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8D显示了在肽施用后24小时来自移除了肌肉的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8E显示了在肽施用后48小时来自移除了皮肤的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8F显示了在肽施用后48小时来自移除了肌肉的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8G显示了在肽施用后72小时来自移除了皮肤的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。图8H显示了在肽施用后72小时来自移除了肌肉的第一小鼠和第二小鼠的右后肢。在测试的所有时间点,在分离的右后肢的膝关节中观察到肽荧光。本公开的肽可复合、缀合或融合至一种或多种Cy5.5荧光团。

[0730] 实施例85

[0731] 多种条件下的肽抗性

[0732] 该实施例说明了在多种应激条件(如高温、低pH、还原剂和蛋白酶)下的肽稳定性。为了测定对高温的抗性,将胱氨酸密集肽(CDP)以0.5mM在PBS中在75℃或100℃下孵育1h并沉淀,并且用反相色谱法(RPC)分析上清液。为了测定对蛋白水解消化的抗性,将CDP与50U的猪胃蛋白酶(在pH 1.0的模拟胃液中)或50U的猪胰蛋白酶(在PBS中)混合,在37℃下孵育30分钟并用RPC分析。比较氧化和还原形式(通过添加10mM DTT制备)。使用圆二色光谱法在具有1.0-mm路径长度的池中用Jasco J-720W分光偏振计测量肽的二级结构,并将CDP稀释

到20mM磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 中,浓度为15-25 μ M。预期这些条件会使常规的球状蛋白和许多肽变性或降解。在表10中,“高”抗性表明在给定的实验条件下大量肽保持或保留为未经修饰,并且“低”抗性表明在给定的实验条件下少量肽保持或保留为未经修饰。显著地,该实施例中描述的实验条件是比较许多标准的体内或生理条件、体外条件、制造期间的条件、和处理条件更极端的应激条件。这样,甚至“低”抗性可表明对这些应激条件的有意义的抗性,这些应激条件可适用于本文所述的许多用途。来自这些研究的数据在表10中显示。测试的肽 (SEQ ID NO:150) 显示出对一种或多种测试条件的高抗性。

[0733] 表10-SEQ ID NO:150对多种条件的抗性

[0734]	SEQ ID NO:	对还原的抗性	对 75°C 的抗性	对 100°C 的抗性	对胃蛋白酶抗性	对胰蛋白酶抗性
	150	高	高	高	高	高

[0735] 实施例86

[0736] 截短肽变体合成

[0737] 该实施例说明了亲本肽的截短肽变体的合成。使用固相肽合成 (SPPS) 合成了SEQ ID NO:149 (39个氨基酸) (SEQ ID NO:149也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)。从固相释放肽后,将肽纯化,然后在溶液中通过氧化进行折叠。通过反相色谱法进一步纯化折叠的肽,并冻干为TFA盐。最终的产物具有96.1%的纯度和4,301.7Da的质量,这证实了其作为SEQ ID NO:149的肽的身份。

[0738] 使用SPPS合成了截短形式的SEQ ID NO:149,其仅为31个氨基酸并且为SEQ ID NO:110。从固相释放肽后,通过在溶液中氧化来折叠肽。通过反相色谱法进一步纯化折叠的肽,并冻干为TFA盐。截短包括从SEQ ID NO:149的N末端省略最后八个氨基酸以产生SEQ ID NO:110。

[0739] 截短被设计为去除肽的一部分,以不干扰三级结构并保留所有二硫桥和电荷。合成是成功的并且最终的产物具有96.8%的纯度和3,578.0Da的质量,这证实了其作为SEQ ID NO:110的肽的身份。

[0740] 在固相合成期间发生制造肽的主要成本。SPPS中使用的原料 (即,Fmoc氨基酸和有机溶剂) 的成本以及人工成本和制造时间 (例如,每个氨基酸添加步骤需要1-2天) 是肽总成本的主要来源。因此,将SEQ ID NO:149 (也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示) 减少八个氨基酸 (约20%) 长度以产生SEQ ID NO:110既减少了时间 (人工,设施时间),又减少了所需原料的量,从而降低了生产最终产物所需的成本和时间。

[0741] 相同的制造优势也适用于包含SEQ ID NO:24-SEQ ID NO:44、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:106-SEQ ID NO:108、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:221-224、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240、SEQ ID NO:260-263的肽中的任一个。

[0742] 实施例87

[0743] 截短肽缀合

[0744] 该实施例测试了本公开的截短肽是否具有可用于缀合的N末端伯胺。SEQ ID NO:149的全长肽和SEQ ID NO:110的截短变体肽在其序列中各自含有位于肽链的N末端的单个伯胺。为了确定N末端伯胺是否易于缀合,使用胺特异性反应性染料Cy5.5-NHS酯对SEQ ID NO:149的全长肽和SEQ ID NO:110的截短变体肽进行了小规模反应。通过反相HPLC监测反应。在反应开始之前和完成之后,观察到与SEQ ID NO:149的未经修饰的全长肽的保留时间相对应的峰的面积。对应于SEQ ID NO:149的全长肽的峰在反应开始后显示峰面积减小,并且出现具有不同保留时间的新峰,表明SEQ ID NO:149的全长肽的N末端伯胺是可获得的并且可用于缀合。同样,对应于SEQ ID NO:110的未经修饰的截短变体肽的峰面积在反应开始后显示峰面积减小,并且出现具有不同保留时间的新峰,表明SEQ ID NO:110的截短变体肽的N末端伯胺是可获得的并且可用于缀合。

[0745] 实施例88

[0746] 截短肽变体

[0747] 该实施例说明了与亲本肽序列相比具有增加的稳定性、降低的免疫原性区、以及用于分光光度报告的酪氨酸取代的变体肽序列的设计。基于来自实施例75的多重序列比对的信息和来自实施例76的免疫原性测试,鉴定了亲本肽序列SEQ ID NO:110的潜在突变,所述突变可导致具有增加的稳定性、降低的免疫原性或在270-280nm处增加的吸光度(如用于分光光度报告的至酪氨酸或色氨酸残基的取代)的肽。

[0748] 在SEQ ID NO:110中,残基D10具有切割的风险。基于多重序列比对,最佳减少在D10处切割的候选残基突变是D10E和D10Q。基于保留电荷,D10E是优先选择。

[0749] 残基M17具有氧化的风险。基于多重序列比对,最佳减少氧化的候选残基突变是M17T和M17A。基于在每个突变情况下的肽的免疫原性评分,测定M17T是更佳的突变,因为与SEQ ID NO:110以及具有M17A的变体(其并未消除SEQ ID NO:110的亲本肽的预测的免疫原性)相比,它消除了免疫原性的重要来源。

[0750] 残基N24具有脱酰胺的风险,这至少部分是由于邻近残基S25导致的。然而,在实施例77的比对中,N24在结合Kv1.3的胱氨酸密集肽中是保守的,并且涉及受体结合(Peigneur, S., Biochemistry, 55 (32):2927-35 (2016))。对于某些应用来说,肽被设计为维持这种结合相互作用,并且对于其他应用来说,肽被设计为去除这种结合相互作用。为了维持功能性,基于多重序列比对的一个候选残基突变是S25R,其将影响脱酰胺。然而,它导致预测的免疫原性评分增加。另一个候选残基突变是S25G,但这可能导致更高的脱酰胺速率。如果N24发生突变,那么基于多重序列比对组合免疫原性评分的最佳候选残基突变是N24Q,尽管它具有免疫原性的轻微增加。其他选项是N24A、N24S或N24T。可替代地,为了去除功能性,基于多重序列比对的候选突变是N24A和N24L,它们是优先选择。

[0751] 对于用于分光光度报告的至酪氨酸的取代来说,最佳候选位置是T30Y(其在多重序列比对中具有最强的优先级,并且被发现于若干种稳定的肽(例如SEQ ID NO:206、SEQ ID NO:210和SEQ ID NO:211)中)、和L9Y和H28Y。然而,相对于DR等位基因,T30Y可能轻微增加免疫原性。用于分光光度吸光度的另一个选择是在位置9处用Trp取代Leu。

[0752] 另外,残基R1、R13、R21和R26突变为K的变体肽序列维持与SEQ ID NO:110相似的稳定性和免疫原性。

[0753] 基于上述分析,汇编了以下SEQ ID NO:110的潜在突变的简短列表:D10E;M17T;

N24Q、N24A、N24S、N24T、N24L、S25G和S25R (变体既保留功能又去除结合离子通道的功能)；以及L9Y、H28Y、T30Y、R1K、R13K、R14K、R21K和R26K。

[0754] 此外,在上文且在下文表11中指示的位于SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28和SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:109、SEQ ID NO:110、SEQ ID NO:127-SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:149、SEQ ID NO:150、SEQ ID NO:199和SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的相应位置处的突变可产生变体肽序列,所述变体肽序列相似地可降低免疫原性,增加稳定性,增加可制造性或以其他方式改善肽的特性。

[0755] 表11-SEQ ID NO:110的示例性序列变体

SEQ ID NO:	突变	序列
110	亲本	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
111	D10E、M17T、S25G	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCINGRCHCTP
112	D10E、M17T、S25R	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCINRRCHCTP
113	D10E、M17T	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCINSRCHCTP
114	D10E、M17T、N24Q	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
115	D10E、M17T、N24Q、T30Y	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCIQSRCHCYP
116	L9Y、D10E、M17T、N24Q	RCRGSRDCYEPCCRRAGTRFGRCIQSRCHCTP
117	D10E、M17T、N24Q、H28Y	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCIQSRCYCTP
118	D10E、M17T、N24A、T30Y	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCIASRCHCYP
119	D10E、M17T、N24S、T30Y	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCISSRCHCYP
120	D10E、M17T、N24T、T30Y	RCRGSRDCLEPCRRAGTRFGRCITSRCHCYP
121	R1K	KCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP
122	R13K	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSRCHCTP

SEQ ID NO:	突变	序列
123	R14K	RCRGSRDCLDPCRKAGMRFGRCINSRCHCTP
124	R21K	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGKRCINSRCHCTP
125	R26K	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCINSKCHCTP
126	D10E、M17T 、T30Y	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCINSRCHCYP
233	D10E、M17T 、N24L	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCTP
234	D10E、M17T 、N24L、 T30Y	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
235	D10E、M17T 、N24L、 H28Y	RCRGSRDCLDPCRRAGTRFGRCILSRCHCYP
236	N24Q	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIQSRCHCTP
237	N24A	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCIASRCHCTP
238	N24S	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCISSRCHCTP
239	N24T	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCITSRCHCTP
240	N24L	RCRGSRDCLDPCRRAGMRFGRCILSRCHCTP

[0757] 实施例89

[0759] 在啮齿动物关节炎模型中使用肽-活性剂

[0760] 该实施例说明了在啮齿类动物关节炎模型中使用肽-活性剂。SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:109、或SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽复合、缀合或融合至活性剂。任选地,所述活性剂是糖皮质激素如去异丁酰基环索奈德,并且任选地,接头是可切割的接头。在一种或多种啮齿动物关节炎模型中将肽-活性剂缀合物施用至动物。

[0761] 示例性模型包括链球菌细胞壁诱导的关节炎 (SCW) 模型。将链球菌细胞壁肽聚糖多糖 (PGPS) 关节内施用到啮齿动物 (如Lewis大鼠) 的膝或脚踝,并诱导炎症和关节肿胀。在初次施用平息后,如施用后14天或1个月后,通过静脉内施用PGPS再激活关节炎,这会在最初注射的同一关节中引起另一反应。在关节再激活之前1小时、3小时、8小时、24小时、1天、2天、3天、1周、2周或更长时间,与关节再激活同时或在关节再激活之后,将肽-活性剂缀合物静脉内、皮下或关节内施用到动物的已用PGPS激活的关节中。

[0762] 示例性模型还包括胶原蛋白诱导的关节炎 (CIA) 模型,通过皮内注射于不完全弗氏佐剂中的胶原蛋白来免疫啮齿动物如Lewis大鼠 (第0天)。任选地在7天后进行激发剂量。一只或多只爪子患上关节炎。从第0天后0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14天开始,每1、2、3、4、7或14天一次将肽-活性剂静脉内或皮下施用至动物。

[0763] 在另一种模型中,通过向关节内注射IL-1 β 在关节中诱导炎症。在IL-1 β 施用之前1小时、2小时、3小时、4小时、6小时、12小时、1天、2天、3天、4天、7天或14天,与IL-1 β 施用同时或在IL-1 β 施用之后,将肽-活性剂静脉内或皮下施用至动物。

[0764] 其他任选的模型包括佐剂诱导的或抗原诱导的关节炎,佐剂性关节炎或抗胶原蛋白或其他抗体的施用。

[0765] 通过在上述任一关节炎模型中施用包含SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽的肽-活性剂缀合物,动物中的关节炎反应被阻断、减慢、减轻或减少,如通过读数如关节肿胀(如按直径或体积),关节或血液中的细胞因子蛋白或mRNA水平(如IL-1 β 、IL-6、TNF α),组织病理学或疼痛度量(如步态)所测量的。

[0766] 实施例90

[0767] 在啮齿动物狼疮模型中使用肽-活性剂

[0768] 该实施例说明了在啮齿类动物狼疮模型中使用肽-活性剂。狼疮是使用自发性NZB/W或MRL/lpr或BXSB小鼠在啮齿动物中模型化的,或使用原始素在啮齿动物中诱导,或通过NZB/W小鼠中施用IFN α 在啮齿动物中加速的,如Celhar 2017 (Rheumatology (Oxford) .2017年4月1日;56(增刊_1):i88-i99.Modelling clinical systemic lupus erythematosus:similarities,differences and success stories.Celhar T,Fairhurst AM)所述的。任选地存在系统性红斑狼疮的症状,如自身抗体、抗dsNA、免疫复合肾小球肾炎、ANA、滑膜炎关节炎、皮疹。任选地,动物患上狼疮肾炎。

[0769] SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:109、或SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽复合、缀合或融合至活性剂。任选地,所述活性剂是糖皮质激素如去异丁酰基环索奈德,并且任选地,接头是可切割的接头。每1、2、3、4、7或14天或更多天一次将肽-活性剂静脉内或皮下施用至动物。通过施用测试剂,狼疮或肾炎的症状得到改善。

[0770] 通过在上述任一狼疮模型中施用包含SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽的肽-活性剂缀合物,动物中的狼疮效应被阻断、减慢、减轻或减少。

[0771] 实施例91

[0772] 肽的免疫原性测试

[0773] 该实施例说明了对肽(包括SEQ ID NO:SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:109、或SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽)的免疫原性测试。

[0774] 从健康的或患病的,如受类风湿性关节炎影响的人供体分离树突细胞和/或CD4⁺T细胞和/或外周血单核细胞。测试了多个供体。将SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:109、或SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:

45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的任何肽在单独的孔中施用至细胞。评定细胞的增殖和细胞因子(如IL-2或IFN- γ)分泌。还将对照肽如已知是免疫原性的、非免疫原性的或具有已知免疫原性潜力的那些与细胞一起孵育。鉴定了通过诱导较少的细胞激活而具有较低免疫原性的肽。

[0775] 单独地将SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:109、或SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的一种或多种肽静脉内或皮下注射到小鼠或大鼠或非人灵长类动物中一至四次。在各个时间点收集来自动物的血清,并测试是否存在结合或中和所给予的肽的抗体。还在动物中单独地测试对照蛋白或肽,如已知是免疫原性的、非免疫原性的或具有已知免疫原性潜力的那些。鉴定了通过诱导较少的抗体形成而具有较低免疫原性的肽。

[0776] 通过在上述任一模型中施用包含SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽的肽-活性剂缀合物,动物中的免疫原性效应被阻断、减慢、减轻或减少。

[0777] 实施例92

[0778] 肽的加速稳定性测试

[0779] 该实施例说明了肽的加速稳定性测试。对SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽,或其活性剂缀合物进行加速稳定性测试。将所述肽或肽缀合物在缓冲液中配制并任选地冻干。将该配制材料在 $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/65\%$ 相对湿度(RH) $\pm 5\%$ RH或 $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\%$ RH $\pm 5\%$ RH或 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/60\%$ RH $\pm 5\%$ RH下孵育并进行分析。所述肽或肽缀合物在至少1周、2周、1个月、3个月、6个月、1年、2年或更长时间内保持在验收标准内(任选地 $\geq 90\%$ 纯度或 $\geq 95\%$ 纯度)。

[0780] 实施例93

[0781] 肽缀合物的切割速率

[0782] 该实施例说明了肽缀合物的切割速率。SEQ ID NO:115、SEQ ID NO:234、SEQ ID NO:114、SEQ ID NO:118、SEQ ID NO:126或SEQ ID NO:109、或SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个的肽通过可切割的接头复合、缀合或融合至药物如去异丁酰基环索奈德。任选地,所述接头是酯。将肽缀合物在 37°C 下在缓冲液、大鼠血浆、人血浆或某动物物种的滑液中孵育,并在各个时间点分析切割。通过液相色谱-质谱(LC-MS)对样品进行处理和分析。发现肽缀合物的切割半衰期大于1h、2h、4h、8h、12h、24h或

更长时间。

[0783] 实施例94

[0784] 肽的软骨结合

[0785] 该实施例说明了本公开的肽的软骨结合。例如使用实施例2的方法用 C^{14} 放射标记,或例如使用实施例3的方法用荧光团标记SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263的一种或多种肽。例如通过实施例6、7或11的方法,将所述肽静脉内施用至正常或患病的小鼠或大鼠或其他动物。使肽循环5min、1h、3h、8h、24h、48h或96h。收获组织并分析信号。可看到标记的肽在经治疗的动物的软骨(包括膝和椎间盘)中积聚。

[0786] 实施例95

[0787] 肽的稳定性测试

[0788] 该实施例描述了本公开的肽的稳定性测试。在50mM Tris、5%甘露醇(pH 7.6)中制备SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的5mg/mL溶液。通过在40°C下对样品施加应力10天来评定SEQ ID NO:149在溶液中的稳定性,并通过RP-HPLC与在相同条件下制备并储存在-20°C下的未施加应力的样品并排进行分析。当通过RP-HPLC分析时,与未施加应力的样品相比,施加应力时SEQ ID NO:149的纯度略有下降,初始纯度从96.4%降至93.5%。该变化主要是一个主要杂质峰的面积增加的结果,所述杂质峰在暴露于较高温度的样品中在主峰之后洗脱。在初始样品中没有其他杂质显著增加,也没有观察到明显的新杂质。目视检查样品显示,由于离心后的沉淀,溶解度没有变化,并且没有可见的沉淀外观。

[0789] 通过LC-MS对样品进行进一步分析,以表征在主峰之前和之后洗脱的两种主要杂质以及主峰。在主峰观察到的主要离子(m/z)为1076.2和1104.7;代表一个+4电荷状态,导致平均质量分别为4300.8Da和4415.0Da。SEQ ID NO:149的理论平均质量为4300.1;因此,与4300.8Da的紧密匹配证实了其身份。4415Da质量相差+114amu,并且与结合的三氟乙酸TFA(TFA加合物)的存在一致。

[0790] 还分析了在未施加应力的样品和施加应力的样品中紧接在主峰之前观察到的峰。在该先前峰中观察到的主要离子为1080.5(m/z);一个+4电荷状态导致平均质量为4316.9。+16amu的差异与SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的氧化物质一致,所述氧化物质存在于未施加应力的样品和施加应力的样品中,表明它可能是在肽的制造过程中形成的。

[0791] 还分析了应力下的主要增加峰(在主峰后洗脱)。在主峰后洗脱在该峰中观察到的但未在主峰中发现的一个离子为1076.4m/z;代表一个+4电荷状态,对应的平均质量为4301.6Da。+1amu的差异与可能的天冬酰胺脱酰胺是一致的。这种脱酰胺可能在制造过程中发生,并可能在应力期间加剧。另外,有可能发生异构化事件(如Asp异构化),因为它们不会从原始物质发生质量偏移。

[0792] 这些结果指示,在制造SEQ ID NO:149(也公开为SEQ ID NO:46;SEQ ID NO:149/SEQ ID NO:46的非GS版本在SEQ ID NO:128和SEQ ID NO:205中显示)的过程中,可能已经发生了位置M25处的Met残基的氧化。这些结果还指示,在制造SEQ ID NO:149的肽的过程中

可能已经发生了位置N7或N32处的一个或多个Asn残基的脱酰胺并且在施加应力的过程中加剧。

[0793] 这些结果指示,SEQ ID NO:149中的M25、N7和N32残基中的一个或多个可能不太稳定,因此通过在肽中的这些残基中的一个或多个处(或在变体或更短的肽中的相应位置中)进行修饰或取代,可使肽稳定并改善其特性。因此,修饰或取代本公开的相应肽中的M25、N7和/或N32残基中的一个或多个,可产生如SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:89、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:106、SEQ ID NO:223、SEQ ID NO:224、SEQ ID NO:225、SEQ ID NO:226的示例性肽所示的更稳定的结构或可应用于这些示例性肽,它们是具有这种改善的特性的肽。例如,表7A和表7B以及表11中所示的许多肽这些变化中的这些的一种或多种。包含这些修饰的另外的示例性肽包括SEQ ID NO:52-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:241-SEQ ID NO:248、SEQ ID NO:134-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:249-SEQ ID NO:256、SEQ ID NO:111-SEQ ID NO:126和SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:240的肽。还显示了此类改善的特性可应用于SEQ ID NO:27-SEQ ID NO:45、SEQ ID NO:47-SEQ ID NO:66、SEQ ID NO:109-SEQ ID NO:126、SEQ ID NO:129-SEQ ID NO:148、SEQ ID NO:198、SEQ ID NO:200-SEQ ID NO:215、SEQ ID NO:233-SEQ ID NO:256或SEQ ID NO:260-SEQ ID NO:263中的任一个。

[0794] 虽然本文已经示例或示出并描述了本公开的某些实施方案,但是对于本领域技术人员将显而易见的是此类实施方案仅通过实施例提供。并不旨在将本公开限制为说明书中提供的具体实施例。虽然参考前述说明书已经描述了本公开,但是本文的实施方案的描述和说明并不意味着以限制性含义来解释。在不脱离本公开的情况下,本领域技术人员现在将清楚许多变型、改变和替代。此外,应当理解,本公开的所有实施方案不限于本文所述的取决于多种条件和变量的具体描述、配置或相对比例。应当理解,本文所述的本公开的实施方案的多种替代方案可用于实践本公开。因此,预期本公开还应涵盖任何此类替代方案、修改、变型或等同物。所附权利要求旨在限定本公开的范围,并且由此覆盖这些权利要求及其等同物的范围内的方法和结构。

序列表

<110> 光明之火生物科学公司 (BLAZE BIOSCIENCE, INC.)

<120> 截短的软骨归巢肽和肽复合物及其使用方法

<130> 45639-716.601

<140>

<141>

<150> 62/676,033

<151> 2018-05-24

<150> 62/644,329

<151> 2018-03-16

<160> 266

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<400> 1

000

<210> 2

<400> 2

000

<210> 3

<400> 3

000

<210> 4

<400> 4

000

<210> 5

<400> 5

000

<210> 6

<400> 6

000

<210> 7

<400> 7

000

<210> 8

<400> 8

000

<210> 9

<400> 9

000

<210> 10

<400> 10

000

<210> 11

<400> 11

000

<210> 12

<400> 12

000

<210> 13

<400> 13

000

<210> 14

<400> 14

000

<210> 15

<400> 15

000

<210> 16

<400> 16

000

<210> 17

<400> 17

000

<210> 18

<400> 18

000

<210> 19

<400> 19

000

<210> 20

<400> 20

000

<210> 21

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (3) .. (3)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (7) .. (7)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (11) .. (11)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (14) .. (14)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (18) .. (18)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (22) .. (22)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (24) .. (24)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (26) .. (26)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES

<222> (28) .. (28)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (37) .. (37)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39) .. (39)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (41) .. (42)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<400> 21

Gly Ser Xaa Val Xaa Ile Xaa Val Lys Cys Xaa Gly Ser Xaa Gln Cys

1 5 10 15

Leu Xaa Pro Cys Lys Xaa Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Lys Cys Met

20 25 30

Asn Gly Lys Cys Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa

35 40

<210> 22

<211> 42

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3) .. (3)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7) .. (7)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>
<221> MOD_RES
<222> (11) .. (11)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (14) .. (14)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (18) .. (18)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (22) .. (22)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (24) .. (24)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (26) .. (26)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28) .. (28)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37) .. (37)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39) .. (39)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (41) .. (42)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<223> 参见对于取代和优选实施方案的详细描述而提交的说明书

<400> 22

Gly Ser Xaa Val Xaa Ile Xaa Val Arg Cys Xaa Gly Ser Xaa Gln Cys

1 5 10 15

Leu Xaa Pro Cys Arg Xaa Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Arg Cys Met

20 25 30

Asn Gly Arg Cys Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa

35 40

<210> 23

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7) .. (7)

<223> N、S或G

<220>

<221> MOD_RES

<222> (17) .. (17)

<223> L或Y

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18) .. (18)

<223> D或E

<220>

<221> MOD_RES

<222> (25) .. (25)

<223> M或T

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32) .. (32)

<223> N、Q、A、S、T或L

<220>

<221> MOD_RES

<222> (33) .. (33)

<223> S、G或R

<220>

<221> MOD_RES

<222> (36) .. (36)

<223> H或Y

<220>

<221> MOD_RES

<222> (38) .. (38)

<223> T或Y

<220>

<223> 参见对于取代和优选实施方案的详细描述而提交的说明书

<400> 23

Gly	Ser	Gly	Val	Pro	Ile	Xaa	Val	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys
1				5				10					15		
Xaa	Xaa	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly	Xaa	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Xaa
			20				25					30			
Xaa	Arg	Cys	Xaa	Cys	Xaa	Pro									
			35												

<210> 24

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11) .. (11)

<223> L或Y

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12) .. (12)

<223> D或E

<220>

<221> MOD_RES

<222> (19) .. (19)

<223> M或T

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26) .. (26)

<223> N、Q、A、S、T或L

<220>

<221> MOD_RES

<222> (27) .. (27)

<223> S、G或R

<220>

<221> MOD_RES

<222> (30) .. (30)

<223> H或Y

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32) .. (32)

<223> T或Y

<400> 24

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Xaa Xaa Pro Cys Arg Arg

1 5 10 15

Ala Gly Xaa Arg Phe Gly Arg Cys Ile Xaa Xaa Arg Cys Xaa Cys Xaa

20 25 30

Pro

<210> 25

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8) .. (8)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (12) .. (12)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16) .. (16)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18) .. (18)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (20) .. (20)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (22) .. (22)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (31) .. (31)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (33) .. (33)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (35) .. (36)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<400> 25

Gly Ser Lys Cys Xaa Gly Ser Xaa Gln Cys Leu Xaa Pro Cys Lys Xaa

1 5 10 15

Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys Cys Xaa Cys

20 25 30

Xaa Pro Xaa Xaa

35

<210> 26

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (8) .. (8)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (12) .. (12)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (16) .. (16)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (18) .. (18)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (20) .. (20)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (22) .. (22)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (31) .. (31)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (33) .. (33)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (35) .. (36)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<400> 26

Gly Ser Arg Cys Xaa Gly Ser Xaa Gln Cys Leu Xaa Pro Cys Arg Xaa

1 5 10 15

Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Arg Cys Met Asn Gly Arg Cys Xaa Cys

20 25 30

Xaa Pro Xaa Xaa

35

<210> 27

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 27

Gly Ser Lys Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Lys Lys

1 5 10 15

Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Ile Asn Ser Lys Cys His Cys Thr

20 25 30

Pro

<210> 28

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 28

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg

1 5 10 15

Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr

20 25 30

Pro

<210> 29

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 29

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg
1 5 10 15
Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Gly Arg Cys His Cys Thr
 20 25 30

Pro

<210> 30

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 30

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg
1 5 10 15
Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Arg Arg Cys His Cys Thr
 20 25 30

Pro

<210> 31

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 31

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg
1 5 10 15
Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr
 20 25 30

Pro

<210> 32

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 32

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg
1 5 10 15
Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg Cys His Cys Thr

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 36

Gly	Ser	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Glu	Pro	Cys	Arg	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Ala	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Tyr
				20				25					30		

Pro

<210> 37

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 37

Gly	Ser	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Glu	Pro	Cys	Arg	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Ser	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Tyr
				20				25					30		

Pro

<210> 38

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 38

Gly	Ser	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Glu	Pro	Cys	Arg	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gly	Thr	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Thr	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Tyr
				20				25					30		

Pro

<210> 39

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 39

Gly	Ser	Lys	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr
			20					25					30		

Pro

<210> 40

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 40

Gly	Ser	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Lys	Arg
1				5					10					15	
Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr
			20					25					30		

Pro

<210> 41

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 41

Gly	Ser	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Lys
1				5					10					15	
Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr
			20					25					30		

Pro

<210> 42

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 42

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg
1 5 10 15
Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr
 20 25 30

Pro

<210> 43

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 43

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg
1 5 10 15
Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Lys Cys His Cys Thr
 20 25 30

Pro

<210> 44

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 44

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg
1 5 10 15
Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Tyr
 20 25 30

Pro

<210> 45

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 45

Gly Ser Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp
1 5 10 15
Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile

20 25 30
Asn Ser Arg Cys His Cys Thr Pro
35 40
<210> 46
<211> 39
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 46
Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys
1 5 10 15
Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn
20 25 30
Ser Arg Cys His Cys Thr Pro
35
<210> 47
<211> 38
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 47
Gly Ser Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu
1 5 10 15
Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser
20 25 30
Arg Cys His Cys Thr Pro
35
<210> 48
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<400> 48
Gly Ser Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp
1 5 10 15
Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 49

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 49

Gly Ser Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro

1 5 10 15

Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys

20 25 30

His Cys Thr Pro

35

<210> 50

<211> 35

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 50

Gly Ser Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys

1 5 10 15

Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His

20 25 30

Cys Thr Pro

35

<210> 51

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 51

Gly Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg

1 5 10 15

Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys

	20	25	30
Thr Pro			
<210> 52			
<211> 39			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 52			
Gly Ser Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys			
1 5 10 15			
Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn			
20 25 30			
Gly Arg Cys His Cys Thr Pro			
35			
<210> 53			
<211> 39			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 53			
Gly Ser Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys			
1 5 10 15			
Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln			
20 25 30			
Ser Arg Cys His Cys Thr Pro			
35			
<210> 54			
<211> 39			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 54			
Gly Ser Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys			
1 5 10 15			
Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn			
20 25 30			

Arg Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 55

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 55

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1

5

10

15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn

20

25

30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 56

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 56

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1

5

10

15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln

20

25

30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 57

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 57

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1

5

10

15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln

20

25

30

Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 58

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 58

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Tyr Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 59

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 59

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln

20 25 30

Ser Arg Cys Tyr Cys Thr Pro

35

<210> 60

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 60

Gly Ser Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 61

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 61

Gly Ser Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Tyr Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 62

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 62

Gly Ser Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln

20 25 30

Ser Arg Cys Tyr Cys Thr Pro

35

<210> 63

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 63

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ala

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 64

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 64

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ser

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 65

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 65

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Thr

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 66

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 66

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 67

<400> 67

000

<210> 68

<400> 68

000

<210> 69

<400> 69

000

<210> 70

<400> 70

000

<210> 71

<400> 71

000

<210> 72

<400> 72

000

<210> 73

<400> 73

000

<210> 74

<400> 74

000

<210> 75

<400> 75

000

<210> 76

<400> 76

000

<210> 77

<400> 77

000

<210> 78

<400> 78

000

<210> 79

<400> 79
000
<210> 80
<400> 80
000
<210> 81
<400> 81
000
<210> 82
<400> 82
000
<210> 83
<400> 83
000
<210> 84
<400> 84
000
<210> 85
<400> 85
000
<210> 86
<400> 86
000
<210> 87
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (3) .. (3)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (9) .. (9)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (12) .. (12)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (16) .. (16)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (20) .. (20)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (22) .. (22)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (24) .. (24)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (26) .. (26)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (35) .. (35)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37) .. (37)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>

<221> MOD_RES
<222> (39) .. (40)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<400> 87
Xaa Val Xaa Ile Xaa Val Lys Cys Xaa Gly Ser Xaa Gln Cys Leu Xaa
1 5 10 15
Pro Cys Lys Xaa Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Lys Cys Met Asn Gly
 20 25 30
Lys Cys Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa
 35 40

$\langle 210 \rangle$ 88
 $\langle 211 \rangle$ 40
 $\langle 212 \rangle$ PRT
 $\langle 213 \rangle$ 人工序列 (Artificial Sequence)

〈223〉 人工序列的描述:合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>

<221> MOD_RES
<222> (3) .. (3)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>

<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>

<221> MOD_RES
<222> (9) .. (9)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>

<221> MOD_RES
<222> (12) .. (12)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>

<221> MOD_RES
 <222> (16) .. (16)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (20) .. (20)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (22) .. (22)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (24) .. (24)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26) .. (26)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (35) .. (35)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (37) .. (37)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (39) .. (40)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<400> 88

Xaa Val Xaa Ile Xaa Val Arg Cys Xaa Gly Ser Xaa Gln Cys Leu Xaa

1 5 10 15

Pro Cys Arg Xaa Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Arg Cys Met Asn Gly

20 25 30

Arg Cys Xaa Cys Xaa Pro Xaa Xaa

35 40

<210> 89

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> N,S或G
<220>
<221> MOD_RES
<222> (15) .. (15)
<223> L或Y
<220>
<221> MOD_RES
<222> (16) .. (16)
<223> D或E
<220>
<221> MOD_RES
<222> (23) .. (23)
<223> M或T
<220>
<221> MOD_RES
<222> (30) .. (30)
<223> N、Q、A、S、T或L
<220>
<221> MOD_RES
<222> (31) .. (31)
<223> S、G或R
<220>
<221> MOD_RES
<222> (34) .. (34)
<223> H或Y
<220>
<221> MOD_RES
<222> (36) .. (36)
<223> T或Y
<220>
<223> 参见对于取代和优选实施方案的详细描述而提交的说明书
<400> 89
Gly Val Pro Ile Xaa Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Xaa Xaa

1	5	10	15
Pro Cys Arg Arg Ala Gly Xaa Arg Phe Gly Arg Cys Ile Xaa Xaa Arg			
	20	25	30

Cys Xaa Cys Xaa Pro

35

<210> 90

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 90

Gly Lys Cys Ile Asn Lys Lys Cys Lys Cys

1	5	10
---	---	----

<210> 91

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 91

Lys Cys Ile Asn

1

<210> 92

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 92

Lys Lys Cys Lys

1

<210> 93

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 93

Pro Cys Lys Arg

1

<210> 94

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 94

Lys Arg Cys Ser Arg Arg

1

5

<210> 95

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 95

Lys Gln Cys

1

<210> 96

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 96

Gly Arg Cys Ile Asn Arg Arg Cys Arg Cys

1

5

10

<210> 97

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 97

Arg Cys Ile Asn

1

<210> 98

<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 98
Arg Arg Cys Arg
1
<210> 99
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 99
Pro Cys Arg Arg
1
<210> 100
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 100
Arg Arg Cys Ser Arg Arg
1 5
<210> 101
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 101
Arg Gln Cys
1
<210> 102
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 102
Pro Cys Lys Lys
1
<210> 103
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 103
Lys Lys Cys Ser Lys Lys
1 5
<210> 104
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 104
Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys Cys
1 5
<210> 105
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 105
Gly Arg Cys Met Asn Gly Arg Cys
1 5
<210> 106
<211> 31
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<220>

<221> MOD_RES
<222> (9) .. (9)
<223> L或Y
<220>
<221> MOD_RES
<222> (10) .. (10)
<223> D或E
<220>
<221> MOD_RES
<222> (17) .. (17)
<223> M或T
<220>
<221> MOD_RES
<222> (24) .. (24)
<223> N、Q、A、S、T或L
<220>
<221> MOD_RES
<222> (25) .. (25)
<223> S、G或R
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28) .. (28)
<223> H或Y
<220>
<221> MOD_RES
<222> (30) .. (30)
<223> T或Y
<400> 106
Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Xaa Xaa Pro Cys Arg Arg Ala Gly
1 5 10 15
Xaa Arg Phe Gly Arg Cys Ile Xaa Xaa Arg Cys Xaa Cys Xaa Pro
 20 25 30
<210> 107
<211> 34
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<220>

<221> MOD_RES
<222> (3) .. (3)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (6) .. (6)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (10) .. (10)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (14) .. (14)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (16) .. (16)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (18) .. (18)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (20) .. (20)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (29) .. (29)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (31) .. (31)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (33) .. (34)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<400> 107

Lys Cys Xaa Gly Ser Xaa Gln Cys Leu Xaa Pro Cys Lys Xaa Ala Xaa

1 5 10 15

Gly Xaa Arg Xaa Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys Cys Xaa Cys Xaa Pro

20 25 30

Xaa Xaa

<210> 108

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3) .. (3)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (6) .. (6)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (10) .. (10)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (14) .. (14)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16) .. (16)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18) .. (18)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (20) .. (20)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (29) .. (29)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (31) .. (31)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<220>

<221> MOD_RES

<222> (33) .. (34)

<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无

<400> 108

Arg	Cys	Xaa	Gly	Ser	Xaa	Gln	Cys	Leu	Xaa	Pro	Cys	Arg	Xaa	Ala	Xaa
1				5					10					15	
Gly	Xaa	Arg	Xaa	Gly	Arg	Cys	Met	Asn	Gly	Arg	Cys	Xaa	Cys	Xaa	Pro
			20					25					30		

Xaa Xaa

<210> 109

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 109

Lys	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Lys	Lys	Ala	Gly
1				5					10					15	
Met	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Ile	Asn	Ser	Lys	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20					25					30		

<210> 110

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 110

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5					10					15	

Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr Pro
20 25 30

<210> 111

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 111

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly
1 5 10 15
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Gly Arg Cys His Cys Thr Pro
20 25 30

<210> 112

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 112

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly
1 5 10 15
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Arg Arg Cys His Cys Thr Pro
20 25 30

<210> 113

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 113

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly
1 5 10 15
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr Pro
20 25 30

<210> 114

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 114

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Glu	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5					10					15	
Thr	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20				25						30		

<210> 115

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 115

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Glu	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5					10					15	
Thr	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Tyr	Pro	
			20				25						30		

<210> 116

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 116

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Tyr	Glu	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5					10					15	
Thr	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Gln	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20				25						30		

<210> 117

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 117

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

20	25	30
<210> 118		
<211> 31		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成多肽		
<400> 118		
Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly		
1 5 10 15		
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ala Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro		
20 25 30		
<210> 119		
<211> 31		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成多肽		
<400> 119		
Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly		
1 5 10 15		
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ser Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro		
20 25 30		
<210> 120		
<211> 31		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成多肽		
<400> 120		
Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly		
1 5 10 15		
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Thr Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro		
20 25 30		
<210> 121		
<211> 31		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 121

Lys	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5				10						15	
Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20					25					30		

<210> 122

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 122

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Lys	Arg	Ala	Gly
1				5				10						15	
Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20					25					30		

<210> 123

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 123

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Lys	Ala	Gly
1				5				10						15	
Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20					25					30		

<210> 124

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 124

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5				10						15	
Met	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20					25					30		

<210> 125

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 125

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly

1 5 10 15

Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Lys Cys His Cys Thr Pro

20 25 30

<210> 126

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 126

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly

1 5 10 15

Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro

20 25 30

<210> 127

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 127

Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu

1 5 10 15

Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser

20 25 30

Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 128

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 128

Gly	Val	Pro	Ile	Asn	Val	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp
1				5					10					15	
Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg
				20				25					30		
Cys	His	Cys	Thr	Pro											
				35											

<210> 129

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 129

Val	Pro	Ile	Asn	Val	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro
1				5				10					15		
Cys	Arg	Arg	Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys
				20				25					30		
His	Cys	Thr	Pro												
				35											

<210> 130

<211> 35

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 130

Pro	Ile	Asn	Val	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys
1				5				10					15		
Arg	Arg	Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His
				20				25					30		
Cys	Thr	Pro													
				35											

<210> 131

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 131

Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg
1 5 10 15
Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys
 20 25 30
Thr Pro

<210> 132

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 132

Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg
1 5 10 15
Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr
 20 25 30
Pro

<210> 133

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 133

Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala
1 5 10 15
Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr Pro
 20 25 30

<210> 134

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 134

Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1	5	10	15												
Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly	Thr	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Gly	Arg
		20						25					30		

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 135

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 135

Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg

20	25	30
----	----	----

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 136

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 136

Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Arg Arg

20	25	30
----	----	----

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 137

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 137

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15
Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg
 20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 138

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 138

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 139

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 139

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 140

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 140

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Tyr Glu

1 5 10 15
Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg
 20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 141

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 141

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg

20 25 30

Cys Tyr Cys Thr Pro

35

<210> 142

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 142

Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 143

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 143

Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Tyr Glu

1	5	10	15
Pro	Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe	Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg	
	20	25	30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 144

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 144

Gly Val Pro Ile Ser Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg

20	25	30
----	----	----

Cys Tyr Cys Thr Pro

35

<210> 145

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 145

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ala Ser Arg

20	25	30
----	----	----

Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 146

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 146

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15
Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ser Ser Arg
 20 25 30

Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 147

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 147

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Thr Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 148

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 148

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 149

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 149

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1	5	10	15
Leu	Asp	Pro	Cys
Arg	Arg	Ala	Gly
Met	Arg	Phe	Gly
Arg	Cys	Ile	Asn
20	25	30	

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 150

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 150

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Lys Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1	5	10	15
Leu	Asp	Pro	Cys
Lys	Lys	Ala	Gly
Met	Arg	Phe	Gly
Lys	Cys	Ile	Asn
20	25	30	

Ser Lys Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 151

<400> 151

000

<210> 152

<400> 152

000

<210> 153

<400> 153

000

<210> 154

<400> 154

000

<210> 155

<400> 155

000

<210> 156

<400> 156

000

<210> 157

<400> 157

000

<210> 158
<400> 158
000
<210> 159
<400> 159
000
<210> 160
<400> 160
000
<210> 161
<400> 161
000
<210> 162
<400> 162
000
<210> 163
<400> 163
000
<210> 164
<400> 164
000
<210> 165
<400> 165
000
<210> 166
<400> 166
000
<210> 167
<400> 167
000
<210> 168
<400> 168
000
<210> 169
<400> 169
000
<210> 170
<400> 170
000

<210> 171
<400> 171
000
<210> 172
<400> 172
000
<210> 173
<400> 173
000
<210> 174
<400> 174
000
<210> 175
<400> 175
000
<210> 176
<400> 176
000
<210> 177
<400> 177
000
<210> 178
<400> 178
000
<210> 179
<400> 179
000
<210> 180
<400> 180
000
<210> 181
<400> 181
000
<210> 182
<400> 182
000
<210> 183
<400> 183
000

<210> 184
<400> 184
000
<210> 185
<400> 185
000
<210> 186
<400> 186
000
<210> 187
<400> 187
000
<210> 188
<400> 188
000
<210> 189
<400> 189
000
<210> 190
<400> 190
000
<210> 191
<400> 191
000
<210> 192
<400> 192
000
<210> 193
<400> 193
000
<210> 194
<400> 194
000
<210> 195
<400> 195
000
<210> 196
<400> 196
000

<210> 197

<400> 197

000

<210> 198

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 198

Val Arg Ile Pro Val Ser Cys Lys His Ser Gly Gln Cys Leu Lys Pro

1 5 10 15

Cys Lys Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys Cys

20 25 30

Asp Cys Thr Pro Lys

35

<210> 199

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 199

Gly Val Pro Ile Asn Val Lys Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp

1 5 10 15

Pro Cys Lys Lys Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Ile Asn Ser Lys

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 200

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 200

Glu Val Ile Arg Cys Ser Gly Ser Lys Gln Cys Tyr Gly Pro Cys Lys

1 5 10 15

Gln Gln Thr Gly Cys Thr Asn Ser Lys Cys Met Asn Lys Val Cys Lys

20	25	30
Cys Tyr Gly Cys Gly		
35		
<210> 201		
<211> 38		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成多肽		
<400> 201		
Gly Val Ile Ile Asn Val Lys Cys Lys Ile Ser Arg Gln Cys Leu Glu		
1 5 10 15		
Pro Cys Lys Lys Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys		
20 25 30		
Cys His Cys Thr Pro Lys		
35		
<210> 202		
<211> 38		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成多肽		
<400> 202		
Gly Val Pro Thr Asp Val Lys Cys Arg Gly Ser Pro Gln Cys Ile Gln		
1 5 10 15		
Pro Cys Lys Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys		
20 25 30		
Cys His Cys Thr Pro Lys		
35		
<210> 203		
<211> 38		
<212> PRT		
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成多肽		
<400> 203		
Gly Val Pro Ile Asn Val Ser Cys Thr Gly Ser Pro Gln Cys Ile Lys		
1 5 10 15		
Pro Cys Lys Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Arg Lys		

	20	25	30
Cys His Cys Thr Pro Lys			
35			
<210> 204			
<211> 37			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 204			
Val Gly Ile Asn Val Lys Cys Lys His Ser Gly Gln Cys Leu Lys Pro			
1 5 10 15			
Cys Lys Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Ile Asn Gly Lys Cys			
20 25 30			
Asp Cys Thr Pro Lys			
35			
<210> 205			
<211> 37			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 205			
Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp			
1 5 10 15			
Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg			
20 25 30			
Cys His Cys Thr Pro			
35			
<210> 206			
<211> 38			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 206			
Gln Lys Ile Leu Ser Asn Arg Cys Asn Asn Ser Ser Glu Cys Ile Pro			
1 5 10 15			
His Cys Ile Arg Ile Phe Gly Thr Arg Ala Ala Lys Cys Ile Asn Arg			

	20	25	30
Lys Cys Tyr Cys Tyr Pro			
35			
<210> 207			
<211> 37			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 207			
Val Phe Ile Asn Val Lys Cys Arg Gly Ser Pro Glu Cys Leu Pro Lys			
1 5 10 15			
Cys Lys Glu Ala Ile Gly Lys Ser Ala Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys			
20 25 30			
Cys Lys Cys Tyr Pro			
35			
<210> 208			
<211> 36			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 208			
Val Pro Thr Asp Val Lys Cys Arg Gly Ser Pro Gln Cys Ile Gln Pro			
1 5 10 15			
Cys Lys Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys Cys			
20 25 30			
His Cys Thr Pro			
35			
<210> 209			
<211> 38			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 209			
Ala Glu Ile Ile Arg Cys Ser Gly Thr Arg Glu Cys Tyr Ala Pro Cys			
1 5 10 15			
Gln Lys Leu Thr Gly Cys Leu Asn Ala Lys Cys Met Asn Lys Ala Cys			

	20	25	30
Lys Cys Tyr Gly Cys Val			
35			
<210> 210			
<211> 36			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 210			
Arg Pro Thr Asp Ile Lys Cys Ser Ala Ser Tyr Gln Cys Phe Pro Val			
1 5 10 15			
Cys Lys Ser Arg Phe Gly Lys Thr Asn Gly Arg Cys Val Asn Gly Leu			
20 25 30			
Cys Asp Cys Phe			
35			
<210> 211			
<211> 37			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 211			
Gln Phe Thr Asp Val Lys Cys Thr Gly Ser Lys Gln Cys Trp Pro Val			
1 5 10 15			
Cys Lys Gln Met Phe Gly Lys Pro Asn Gly Lys Cys Met Asn Gly Lys			
20 25 30			
Cys Arg Cys Tyr Ser			
35			
<210> 212			
<211> 37			
<212> PRT			
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 212			
Val Gly Ile Asn Val Lys Cys Lys His Ser Arg Gln Cys Leu Lys Pro			
1 5 10 15			
Cys Lys Asp Ala Gly Met Arg Phe Gly Lys Cys Thr Asn Gly Lys Cys			

20 25 30

His Cys Thr Pro Lys

35

<210> 213

<211> 35

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 213

Val Val Ile Gly Gln Arg Cys Tyr Arg Ser Pro Asp Cys Tyr Ser Ala

1 5 10 15

Cys Lys Lys Leu Val Gly Lys Ala Thr Gly Lys Cys Thr Asn Gly Arg

20 25 30

Cys Asp Cys

35

<210> 214

<211> 35

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 214

Asn Phe Lys Val Glu Gly Ala Cys Ser Lys Pro Cys Arg Lys Tyr Cys

1 5 10 15

Ile Asp Lys Gly Ala Arg Asn Gly Lys Cys Ile Asn Gly Arg Cys His

20 25 30

Cys Tyr Tyr

35

<210> 215

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 215

Gln Ile Asp Thr Asn Val Lys Cys Ser Gly Ser Ser Lys Cys Val Lys

1 5 10 15

Ile Cys Ile Asp Arg Tyr Asn Thr Arg Gly Ala Lys Cys Ile Asn Gly

20	25	30
Arg Cys Thr Cys Tyr Pro		
35		
<210> 216		
<211> 292		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 人工序列的描述:合成多肽		
<400> 216		
Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro		
1 5 10 15		
Gly Ser Thr Gly Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly		
20 25 30		
Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly		
35 40 45		
Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr Pro Gly Gly Ser Gly Gly		
50 55 60		
Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu		
65 70 75 80		
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
85 90 95		
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
100 105 110		
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
115 120 125		
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr		
130 135 140		
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn		
145 150 155 160		
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro		
165 170 175		
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
180 185 190		
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val		
195 200 205		
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
210 215 220		
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		

225	230	235	240
Pro Val Leu Asp Ser	Asp Gly Ser Phe	Phe Leu Tyr Ser	Lys Leu Thr
	245	250	255
Val Asp Lys Ser Arg	Trp Gln Gln Gly	Asn Val Phe Ser	Cys Ser Val
	260	265	270
Met His Glu Ala Leu	His Asn His Tyr	Thr Gln Lys Ser	Leu Ser Leu
	275	280	285
Ser Pro Gly Lys			
290			

<210> 217

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 217

Met Glu Thr Asp Thr	Leu Leu Leu Trp	Val Leu Leu Leu	Trp Val Pro
1	5	10	15

Gly Ser Thr Gly

20

<210> 218

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 218

Gly Ser Gly Val Pro	Ile Asn Val Arg	Ser Arg Gly Ser	Arg Asp Ser
1	5	10	15

Leu Asp Pro Ser Arg	Arg Ala Gly Met	Arg Phe Gly Arg	Ser Ile Asn
	20	25	30

Ser Arg Ser His Ser Thr Pro

35

<210> 219

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (3) .. (3)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (7) .. (7)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (9) .. (9)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (12) .. (13)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (15) .. (16)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (19) .. (20)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (22) .. (22)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (24) .. (24)

<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (26) .. (26)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28) .. (28)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (30) .. (33)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (35) .. (35)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37) .. (37)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<223> 参见对于取代和优选实施方案的详细描述而提交的说明书
<400> 219
Xaa Val Xaa Ile Xaa Val Xaa Cys Xaa Gly Ser Xaa Xaa Cys Xaa Xaa
1 5 10 15
Pro Cys Xaa Xaa Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Xaa Cys Xaa Xaa Xaa
20 25 30
Xaa Cys Xaa Cys Xaa Pro
35
<210> 220
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (3) .. (3)

<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (7) .. (7)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (9) .. (9)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (11) .. (11)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (14) .. (15)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (17) .. (18)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (21) .. (22)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (24) .. (24)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (26) .. (26)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES

<222> (28) .. (28)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (30) .. (30)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (32) .. (35)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (37) .. (37)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (39) .. (39)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<223> 参见对于取代和优选实施方案的详细描述而提交的说明书
<400> 220
Gly Ser Xaa Val Xaa Ile Xaa Val Xaa Cys Xaa Gly Ser Xaa Xaa Cys
1 5 10 15
Xaa Xaa Pro Cys Xaa Xaa Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Xaa Cys Xaa
 20 25 30
Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Cys Xaa Pro
 35 40
<210> 221
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (1) .. (1)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES

<222> (3) .. (3)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (6) .. (7)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (9) .. (10)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (13) .. (14)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (16) .. (16)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (18) .. (18)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (20) .. (20)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (22) .. (22)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (24) .. (27)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (29) .. (29)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>

<221> MOD_RES

<222> (31) .. (31)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<223> 参见对于取代和优选实施方案的详细描述而提交的说明书

<400> 221

Xaa Cys Xaa Gly Ser Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Pro Cys Xaa Xaa Ala Xaa

1

5

10

15

Gly Xaa Arg Xaa Gly Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Cys Xaa Pro

20

25

30

<210> 222

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3) .. (3)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (8) .. (9)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (11) .. (12)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (15) .. (16)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (18) .. (18)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (20) .. (20)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (22) .. (22)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (24) .. (24)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (26) .. (29)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (31) .. (31)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (33) .. (33)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<223> 参见对于取代和优选实施方案的详细描述而提交的说明书

<400> 222

Gly Ser Xaa Cys Xaa Gly Ser Xaa Xaa Cys Xaa Xaa Pro Cys Xaa Xaa

1 5 10 15

Ala Xaa Gly Xaa Arg Xaa Gly Xaa Cys Xaa Xaa Xaa Xaa Cys Xaa Cys

20 25 30

Xaa Pro

<210> 223

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (9) .. (9)
 <223> L或Y
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (10) .. (10)
 <223> D或E
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (16) .. (16)
 <223> 任何氨基酸或不存在
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (18) .. (18)
 <223> M或T
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (25) .. (25)
 <223> N、Q、A、S、T或L
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26) .. (26)
 <223> S、G或R
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (29) .. (29)
 <223> H或Y
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (31) .. (31)
 <223> T或Y
 <400> 223
 Lys Cys Arg Gly Ser Arg Gln Cys Xaa Xaa Pro Cys Lys Arg Ala Xaa
 1 5 10 15
 Gly Xaa Arg Phe Gly Lys Cys Met Xaa Xaa Lys Cys Xaa Cys Xaa Pro
 20 25 30
 <210> 224
 <211> 34

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成多肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (11) .. (11)
<223> L或Y
<220>
<221> MOD_RES
<222> (12) .. (12)
<223> D或E
<220>
<221> MOD_RES
<222> (18) .. (18)
<223> 任何氨基酸或不存在
<220>
<221> MOD_RES
<222> (20) .. (20)
<223> M或T
<220>
<221> MOD_RES
<222> (27) .. (27)
<223> N、Q、A、S、T或L
<220>
<221> MOD_RES
<222> (28) .. (28)
<223> S、G或R
<220>
<221> MOD_RES
<222> (31) .. (31)
<223> H或Y
<220>
<221> MOD_RES
<222> (33) .. (33)
<223> T或Y
<400> 224

Gly Ser Lys Cys Arg Gly Ser Arg Gln Cys Xaa Xaa Pro Cys Lys Arg
1 5 10 15

Ala Xaa Gly Xaa Arg Phe Gly Lys Cys Met Xaa Xaa Lys Cys Xaa Cys
20 25 30

Xaa Pro

<210> 225

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (1) .. (1)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3) .. (3)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (15) .. (15)

<223> L或Y

<220>

<221> MOD_RES

<222> (16) .. (16)

<223> D或E

<220>

<221> MOD_RES

<222> (22) .. (22)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (24) .. (24)

<223> M或T

<220>

<221> MOD_RES

<222> (31) .. (31)

<223> N、Q、A、S、T或L

<220>

<221> MOD_RES

<222> (32) .. (32)

<223> S、G或R

<220>

<221> MOD_RES

<222> (35) .. (35)

<223> H或Y

<220>

<221> MOD_RES

<222> (37) .. (37)

<223> T或Y

<400> 225

Xaa Val Xaa Ile Xaa Val Lys Cys Arg Gly Ser Arg Gln Cys Xaa Xaa

1 5 10 15

Pro Cys Lys Arg Ala Xaa Gly Xaa Arg Phe Gly Lys Cys Met Xaa Xaa

20 25 30

Lys Cys Xaa Cys Xaa Pro

35

<210> 226

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<220>

<221> MOD_RES

<222> (3) .. (3)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (5) .. (5)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>

<221> MOD_RES

<222> (7) .. (7)

<223> 任何氨基酸或不存在

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (17) .. (17)
 <223> L或Y
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (18) .. (18)
 <223> D或E
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (24) .. (24)
 <223> 任何氨基酸或不存在
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (26) .. (26)
 <223> M或T
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (33) .. (33)
 <223> N、Q、A、S、T或L
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (34) .. (34)
 <223> S、G或R
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (37) .. (37)
 <223> H或Y
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (39) .. (39)
 <223> T或Y
 <400> 226

Gly	Ser	Xaa	Val	Xaa	Ile	Xaa	Val	Lys	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Gln	Cys
1				5					10					15	
Xaa	Xaa	Pro	Cys	Lys	Arg	Ala	Xaa	Gly	Xaa	Arg	Phe	Gly	Lys	Cys	Met
			20					25					30		
Xaa	Xaa	Lys	Cys	Xaa	Cys	Xaa	Pro								
			35					40							

<210> 227
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<400> 227
Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys
1 5
<210> 228
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<220>
<221> MOD_RES
<222> (6) .. (6)
<223> 任何氨基酸或氨基酸类似物或无
<400> 228
Gly Arg Cys Ile Xaa Xaa Arg Cys
1 5
<210> 229
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 人工序列的描述:合成肽
<220>
<221> MOD_RES
<222> (5) .. (5)
<223> N、Q、A、S、T或L
<220>
<221> MOD_RES
<222> (6) .. (6)

<223> S、G或R

<400> 229

Gly Arg Cys Ile Xaa Xaa Arg Cys

1 5

<210> 230

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 230

Pro Cys Arg

1

<210> 231

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 231

Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala

1

5

<210> 232

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 232

Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg

1

5

<210> 233

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 233

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly

1	5	10	15
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu Ser Arg Cys His Cys Thr Pro			
20	25	30	
<210> 234			
<211> 31			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 234			
Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly			
1	5	10	15
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro			
20	25	30	
<210> 235			
<211> 31			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 235			
Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly			
1	5	10	15
Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu Ser Arg Cys Tyr Cys Thr Pro			
20	25	30	
<210> 236			
<211> 31			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 人工序列的描述:合成多肽			
<400> 236			
Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly			
1	5	10	15
Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg Cys His Cys Thr Pro			
20	25	30	
<210> 237			
<211> 31			
<212> PRT			

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 237

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5				10						15	
Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Ala	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20					25					30		

<210> 238

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 238

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5				10						15	
Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Ser	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20					25					30		

<210> 239

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 239

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5				10						15	
Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Thr	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr	Pro	
			20					25					30		

<210> 240

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 240

Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg	Ala	Gly
1				5				10						15	

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

<210> 241

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 241

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys
1 5 10 15
Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu
20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro
35

<210> 242

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 242

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys
1 5 10 15
Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu
20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Tyr Pro
35

<210> 243

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 243

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys
1 5 10 15
Leu Glu Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu
20 25 30

Ser Arg Cys Tyr Cys Thr Pro

35

<210> 244

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 244

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 245

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 245

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ala

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 246

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 246

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ser

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 247

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 247

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Thr

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 248

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 248

Gly Ser Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5 10 15

Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu

20 25 30

Ser Arg Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 249

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 249

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 250

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 250

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Tyr Pro

35

<210> 251

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 251

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Glu

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Thr Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu Ser Arg

20 25 30

Cys Tyr Cys Thr Pro

35

<210> 252

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 252

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Gln Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 253

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 253

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ala Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 254

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 254

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Ser Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 255

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 255

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Thr Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 256

<211> 37

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 256

Gly Val Pro Ile Asn Val Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp

1 5 10 15

Pro Cys Arg Arg Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Leu Ser Arg

20 25 30

Cys His Cys Thr Pro

35

<210> 257

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 257

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys

1 5

<210> 258

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 258

Pro Cys Arg Arg Ala Gly

1 5

<210> 259

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 259

Arg Phe Gly Arg Cys Ile

1 5

<210> 260

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 260

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly

1 5 10 15

Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys

20 25

<210> 261

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 261

Gly Ser Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg

1 5 10 15

Ala Gly Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys

20 25 30

<210> 262

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 262

Arg Cys Arg Gly Ser Arg Asp Cys Leu Asp Pro Cys Arg Arg Ala Gly

1 5 10 15

Met Arg Phe Gly Arg Cys Ile Asn Ser Arg Cys His Cys Thr

20 25 30

<210> 263

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成多肽

<400> 263

Gly	Ser	Arg	Cys	Arg	Gly	Ser	Arg	Asp	Cys	Leu	Asp	Pro	Cys	Arg	Arg
1				5				10					15		
Ala	Gly	Met	Arg	Phe	Gly	Arg	Cys	Ile	Asn	Ser	Arg	Cys	His	Cys	Thr
			20					25					30		

<210> 264

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 264

Gly Ala Gly Ala
1

<210> 265

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 265

Asp Glu Val Asp
1

<210> 266

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 人工序列的描述:合成肽

<400> 266

Leu Glu His Asp
1

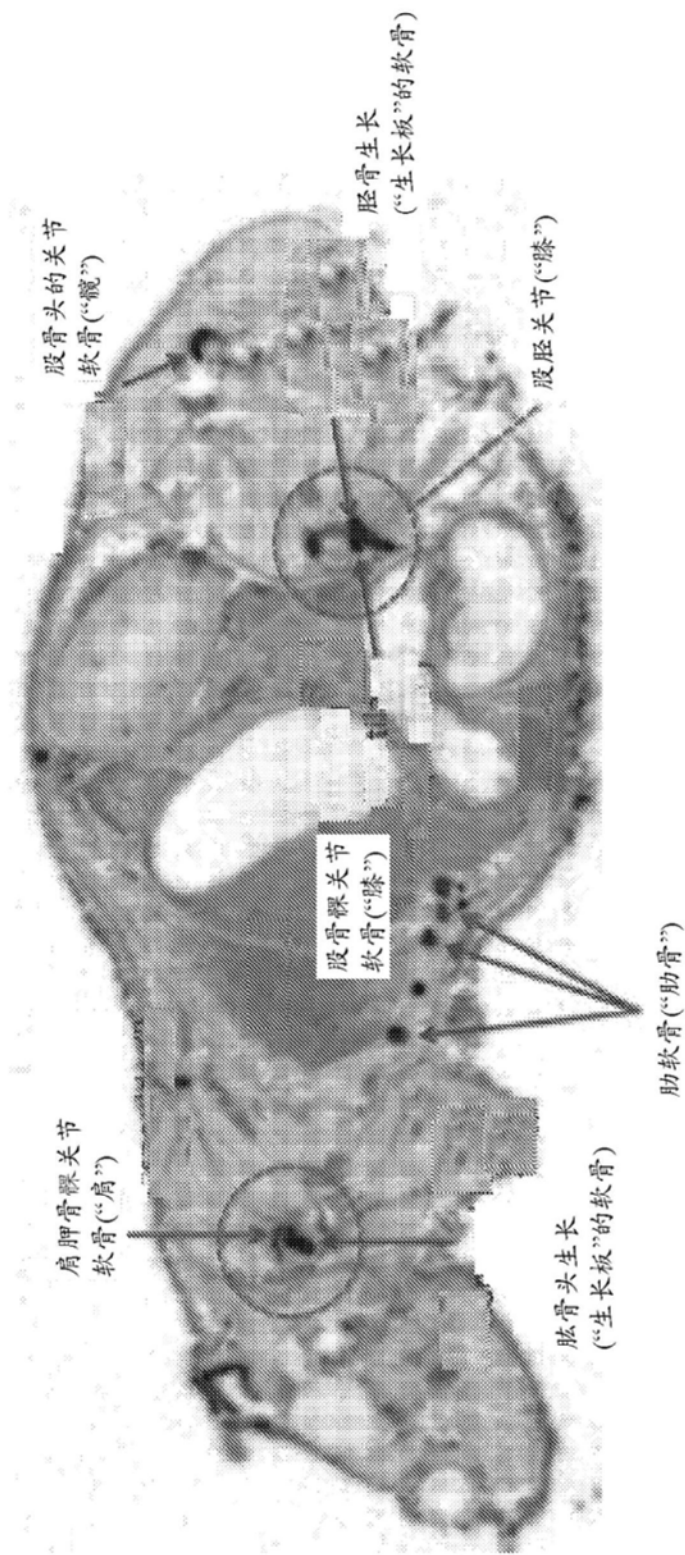


图1

构建体 1

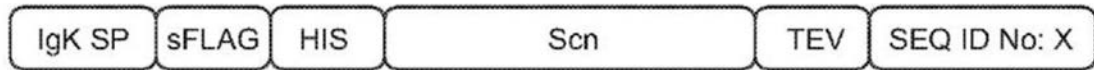


图2

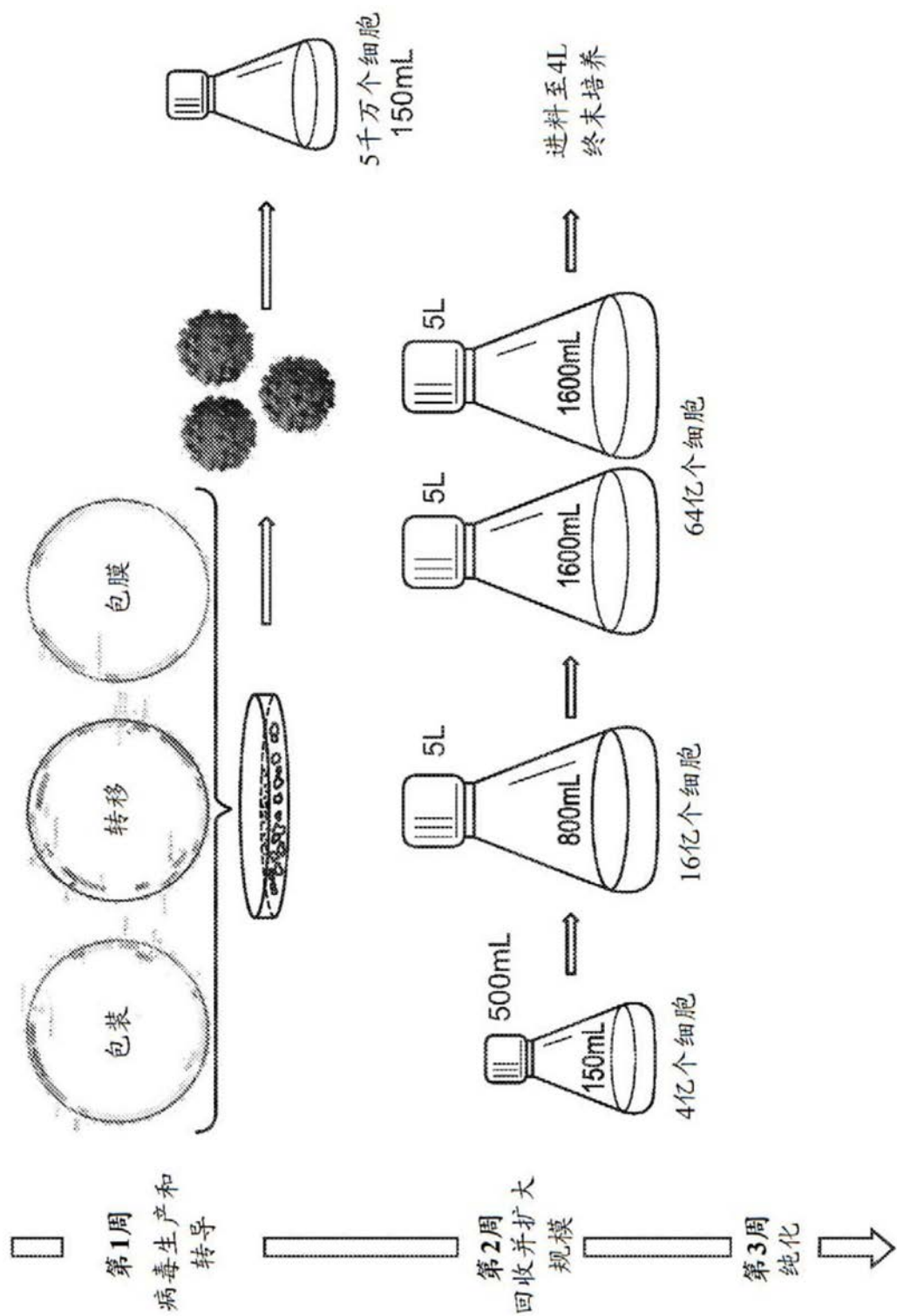


图3

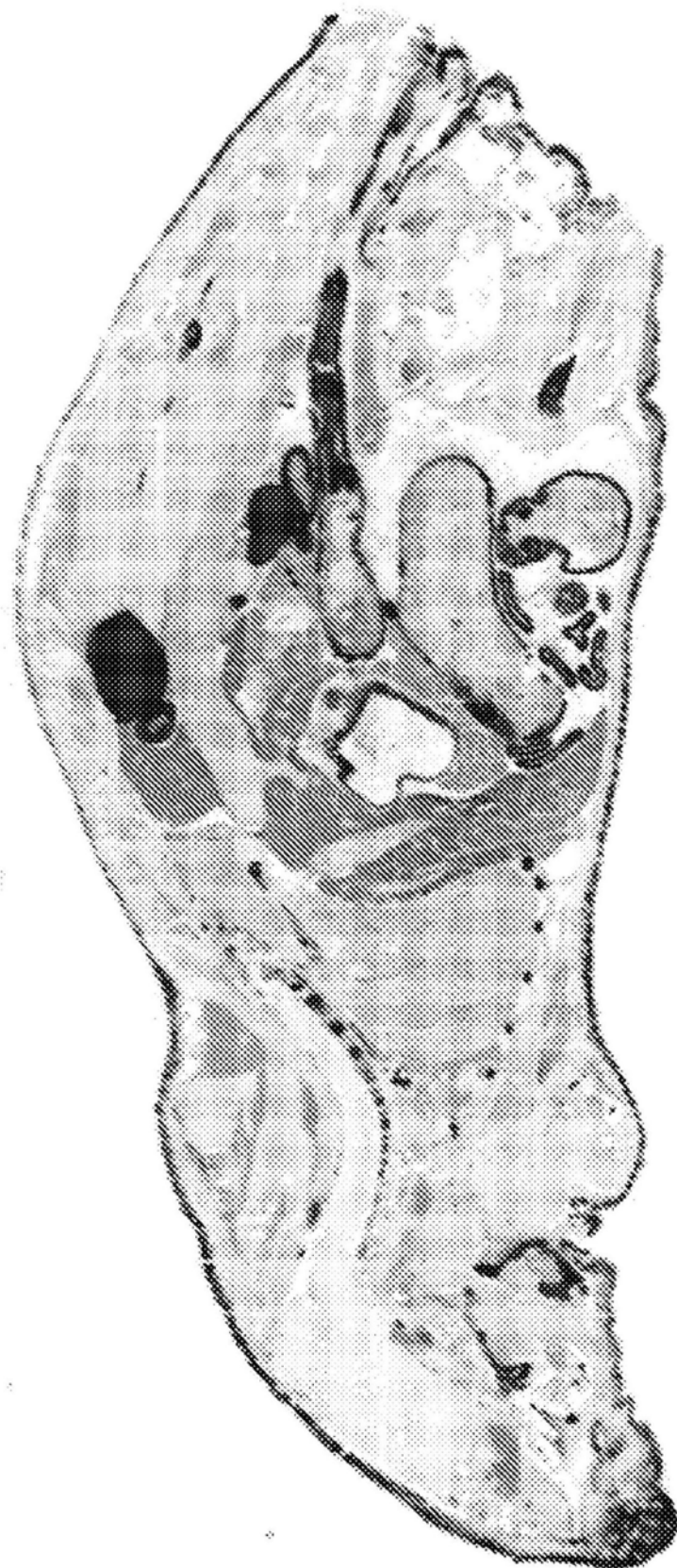


图4

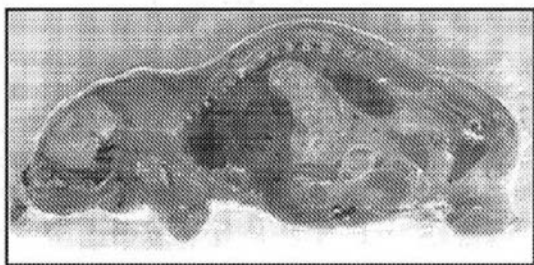


图 5A

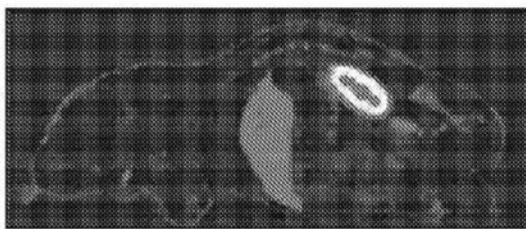


图 5B

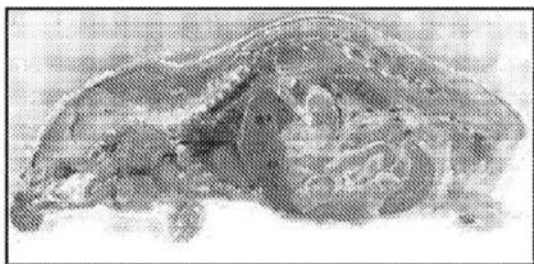


图 5C



图 5D



图 5E



图 5F

图5

SEQ ID NO:

		10	20	30
321	...EV	IRCSGSKQCYGPCKQQTGCTNSKCMNKVCKCYGCG		
543	..AEI	IRCSGTRECYAPCQKLTGCLNAKCMNKACKCYGCV		
544	.RPTD	IKCSASYQCFPVCKSRFGKTNGRCVNLCDCF...		
545	.QFTD	VKCTGSKQCWVPCKQMFQKPNQKCMNGKCRQYS..		
317	GVPI	INVKCRGSRDCLDPCKKA.GMRFGKCMNSKCHCTP..		
398	GVPI	INVRCRGSRDCLDPCKRA.GMRFGRCINSRCHCTP..		
340	.VG	INVCKHSGQCLKPCCKDA.GMRFGKCMNGKCDCTPK.		
546	.VG	INVCKHSGQCLKPCCKDA.GMRFGKCTNGKCHCTPK.		
316	.VR	IPVSCKHSGQCLKPCCKDA.GMRFGKCMNGKCDCTPK.		
333	GVI	INVCKKISRQCLEPCKKA.GMRFGKCMNGKCHCTPK.		
337	GVPT	DVKCRGSPQCIQPCCKDA.GMRFGKCMNGKCHCTPK.		
486	.VPT	DVKCRGSPQCIQPCCKDA.GMRFGKCMNGKCHCTP..		
338	GVPI	INVSCITGSPQCIKPCCKDA.GMRFGKCMNRKCHCTPK.		
483	.VF	INVKCRGSPCLPKCKEAIIGKSAGKCMNGKCKCYP..		
547	.VV	IGQRCYRSPDCYSACKKLVGKATGKCTNGRCDC....		
548	..NFK	VEGACSKPCRKYCIDK.GARNGKCMNGRCHCY..		
549	Q	IDTNVCKSGSSKCVKICIDRYNTRGAKCINGRCTCYP..		
474	QKI	LSNRGNNSSECIIPHGIRIFGTAAKCMNRKCYCYP..		
295	.v.i.vkc.gs.qCl.pCk.a.g.r.gkCmNgkC.C.p..			

图6

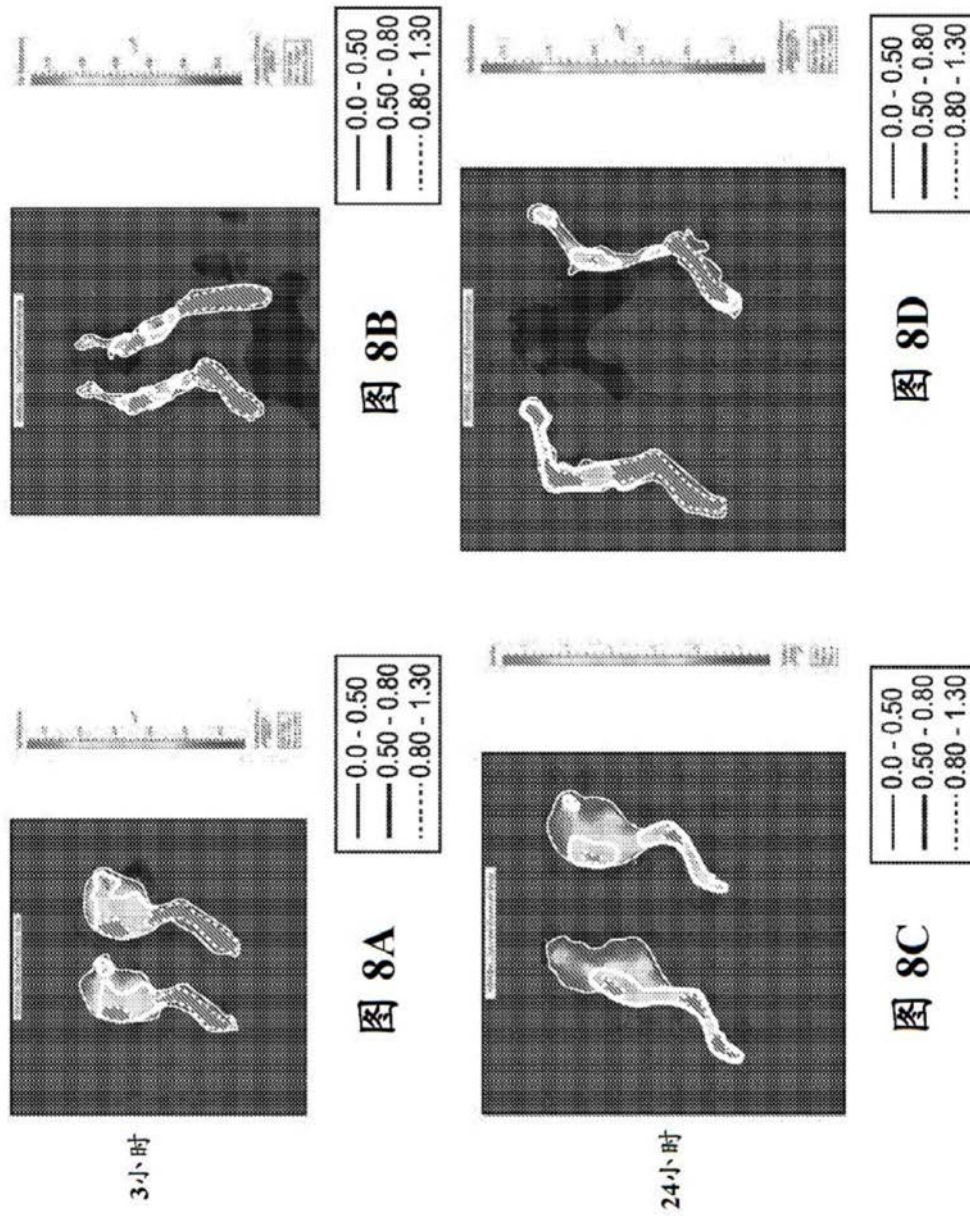


图8

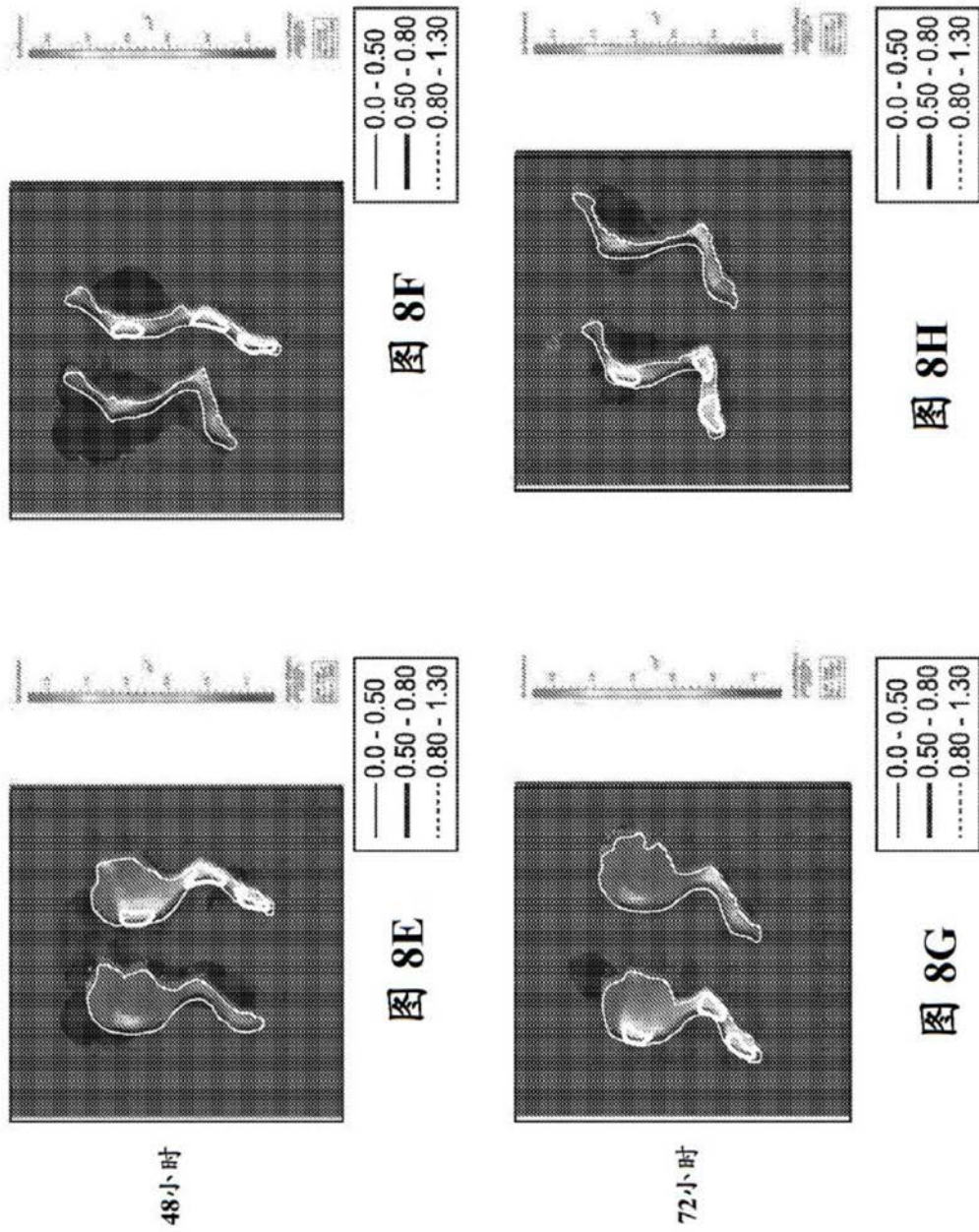


图8

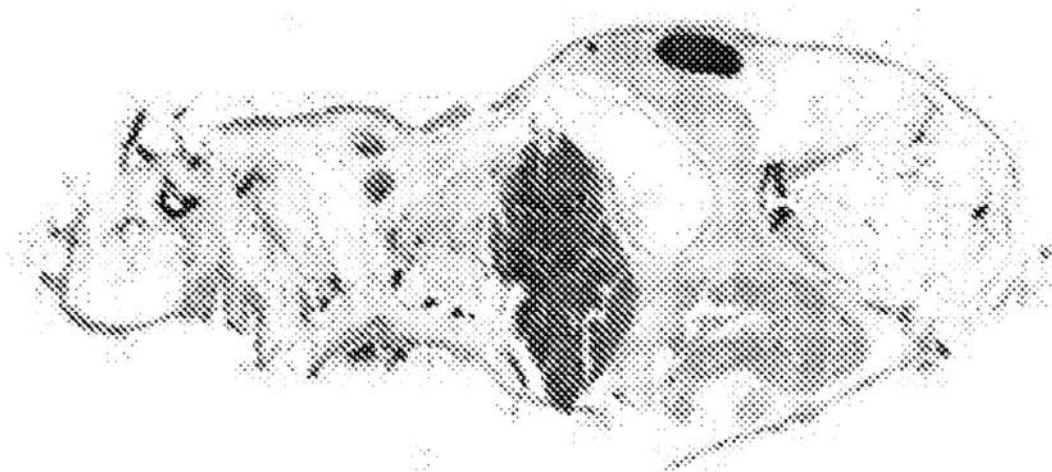


图 9A

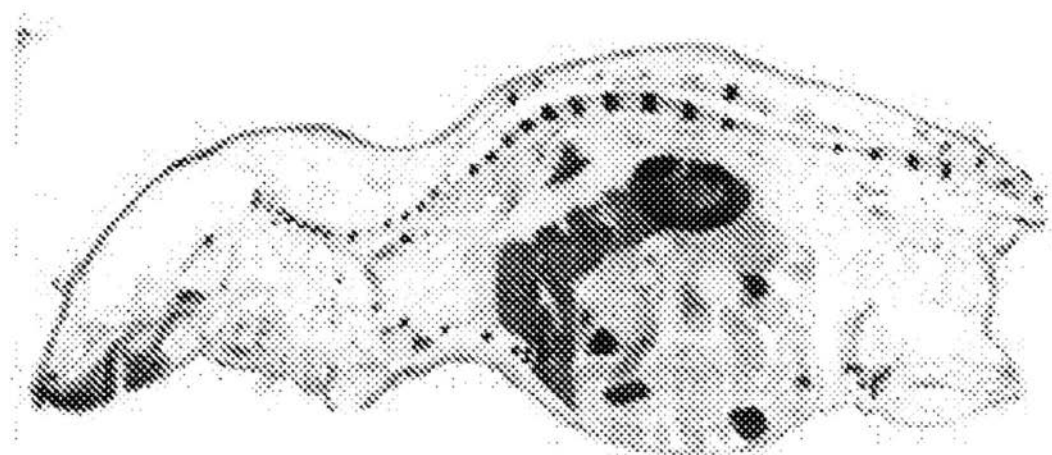


图 9B

图9