(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 110078814 B
(45)授权公告日 2024.03.15

(21)申请号 201811440663.X

(22)申请日 2015.10.23

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110078814 A

(43)申请公布日 2019.08.02

(30)优先权数据
62/068,523 2014.10.24 US
62/068,514 2014.10.24 US
62/068,526 2014.10.24 US
62/068,534 2014.10.24 US
62/068,296 2014.10.24 US
62/141,337 2015.04.01 US
62/141,383 2015.04.01 US

(62)分案原申请数据
201580070276.X 2015.10.23

(73)专利权人 百时美施贵宝公司
地址 美国新泽西

(72)发明人 P·E·莫林 D·科恩 R·慕克吉
T·P·赖利 R·C·克里斯汀
D·利波夫斯基 R·坎普豪森
J·克鲁平斯基

(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司 72002
专利代理师 左路 区斌

(51)Int.Cl.
C07K 14/50(2006.01)
C12N 15/12(2006.01)
A61K 45/06(2006.01)
A61K 47/60(2017.01)
A61P 3/10(2006.01)
A61P 3/04(2006.01)
A61P 1/16(2006.01)
A61P 9/04(2006.01)
A61P 9/00(2006.01)
A61P 13/12(2006.01)
A61P 11/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 1863458 A,2006.11.15
US 2012129766 A1,2012.05.24

审查员 刘芳

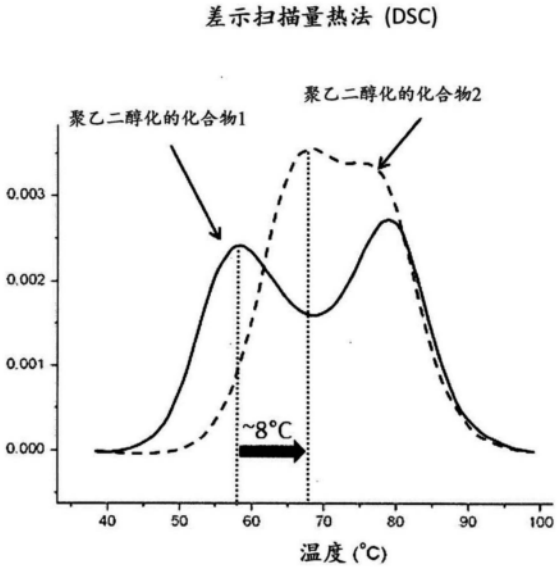
权利要求书2页 说明书151页
序列表279页 附图105页

(54)发明名称

修饰的FGF-21多肽及其用途

(57)摘要

提供了修饰的FGF-21多肽及其用途,例如用于治疗纤维化相关疾病。公开了含有内部缺失及任选的置换肽的修饰的FGF-21多肽,其任选地经至少一个非天然编码的氨基酸修饰和/或任选地融合至融合配偶体。



CN 110078814 B

1. 修饰的FGF-21多肽在制备用于治疗纤维化相关疾病的药物中的用途,所述纤维化相关疾病选自非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝纤维化或肝硬化,其中所述修饰的FGF-21多肽由SEQ ID NO: 201的多肽组成,其中其对-乙酰基-苯丙氨酸残基连接至聚(乙二醇)部分。

2. 包含(1)修饰的FGF-21多肽和(2)至少一种融合伴侣的融合多肽在制备用于治疗纤维化相关的疾病的药物中的用途,所述纤维化相关的疾病选自非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝纤维化或肝硬化,其中所述(1)修饰的FGF-21多肽由SEQ ID NO:201的多肽组成,其中其对-乙酰基-苯丙氨酸残基连接至聚(乙二醇)部分;并且所述(2)至少一种融合伴侣连接至修饰的FGF-21多肽的N末端和/或C末端,并且所述融合伴侣选自以下:(i)连接至SEQ ID NO:201的所述修饰的FGF-21的N末端的甲硫氨酸,(ii)促进融合多肽的纯化的多组氨酸或亲和表位,(iii)血清白蛋白结合肽,(iv)血清白蛋白,(v)Fc结构域或免疫球蛋白恒定区,(vi)XTEN和(vii)adnectin。

3. 权利要求2的用途,其中所述血清白蛋白结合肽是PKE adnectin。

4.权利要求1-3中任一项的用途,其中所述纤维化相关疾病是NASH。

5. 修饰的FGF-21多肽在制备用于治疗或预防非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的药物中的用途,其中所述修饰的FGF-21多肽由SEQ ID NO: 201的多肽组成,其中其对-乙酰基-苯丙氨酸残基连接至聚(乙二醇)部分。

6. 包含(1)修饰的FGF-21多肽和(2)至少一种融合伴侣的融合多肽在制备用于治疗或预防非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的药物中的用途,其中所述(1)修饰的FGF-21多肽由SEQ ID NO:201的多肽组成,其中其对-乙酰基-苯丙氨酸残基连接至聚(乙二醇)部分;并且所述(2)至少一种融合伴侣连接至修饰的FGF-21多肽的N末端和/或C末端,并且所述融合伴侣选自以下:(i)连接至SEQ ID NO:201的所述修饰的FGF-21的N末端的甲硫氨酸,(ii)促进融合多肽的纯化的多组氨酸或亲和表位,(iii)血清白蛋白结合肽,(iv)血清白蛋白,(v)Fc结构域或免疫球蛋白恒定区,(vi)XTEN和(vii)adnectin。

7. 权利要求6的用途,其中所述血清白蛋白结合肽是PKE adnectin。

8.权利要求5-7中任一项的用途,其中所述药物用于治疗NASH。

9.权利要求1-3中任一项的用途,其中所述纤维化相关疾病是肝硬化。

10.权利要求1-3中任一项的用途,其中所述纤维化相关疾病是肝纤维化。

11.权利要求1-3中任一项的用途,其中所述聚(乙二醇)具有0.1kDa至100kDa的分子量。

12.权利要求4的用途,其中所述聚(乙二醇)具有0.1kDa至100kDa的分子量。

13.权利要求5-7中任一项的用途,其中所述聚(乙二醇)具有0.1kDa至100kDa的分子量。

14.权利要求8的用途,其中所述聚(乙二醇)具有0.1kDa至100kDa的分子量。

15.权利要求11的用途,其中所述聚(乙二醇)具有10kDa至40kDa的分子量。

16.权利要求12的用途,其中所述聚(乙二醇)具有10kDa至40kDa的分子量。

17.权利要求13的用途,其中所述聚(乙二醇)具有10kDa至40kDa的分子量。

18.权利要求15的用途,其中所述聚(乙二醇)具有30kDa的分子量。

19.权利要求17的用途,其中所述聚(乙二醇)具有30kDa的分子量。

20.权利要求1-3、5或6中任一项的用途,其中所述用途包括皮下注射所述药物。

21.权利要求1-3、5或6中任一项的用途,其中所述药物是单位剂量。

22.权利要求1-3、5或6中任一项的用途,其中所述其对-乙酰基-苯丙氨酸残基经由肟键连接至所述聚(乙二醇)部分,所述肟键具有由羰基与氨基氧基反应产生的结构。

23.权利要求22的用途,其中所述药物是单位剂量。

修饰的FGF-21多肽及其用途

[0001] 本申请为申请日为2015年10月23日、申请号为201580070276.X、发明名称为“修饰的FGF-21多肽及其用途”的发明专利申请的分案申请。

发明领域

[0002] 本发明涉及含有内部缺失的任选地经肽置换的修饰的FGF-21多肽及其用于治疗或预防疾病和病症的用途。

[0003] 发明背景

[0004] 成纤维细胞生长因子是广泛表达于发育和成熟组织中的多肽(Baird等,Cancer Cells,3:239-243,1991),其在多个生理功能中起关键作用(McKeehan等,Prog.Nucleic Acid Res.Mol.Biol.59:135-176,1998;Burgess,W.H.等,Annu.Rev.Biochem.58:575-606(1989)。根据文献,FGF家族由至少二十二个成员组成(Reuss等,Cell Tissue Res.313:139-157(2003))。

[0005] 成纤维细胞生长因子21(FGF-21)已描述于文献中(Nishimura等,Biochimica et Biophysica Acta,1492:203-206(2000);WO 01/36640;和WO01/18172及美国专利公开No.20040259780,其各自通过提述以其整体并入本文)。不同于其他FGF,已报导FGF-21不具有增殖及致瘤效应(Ornitz和Itoh,Genome Biology 2001,2(3):评述3005.1-3005.12)。

[0006] 一些FGF-21多肽及其用途描述于美国专利公开No.20010012628、美国专利No.6,716,626,U.S、美国专利公开No.2004/0259780、WO 03/011213、Kharitonenkov等J Clin Invest.2005年6月;115(6):1627-35;WO 03/059270;美国专利公开No.2005/0176631,WO 2005/091944;WO 2007/0293430;美国专利公开No.2007/0293430;WO/2008/121563;美国专利No.4,904,584;WO 99/67291;WO 99/03887;WO 00/26354及美国专利No.5,218,092中,其各自通过提述以其整体并入本文。

[0007] 已报导人FGF-21在体内倾向于经历蛋白水解,在体外形成聚集体,经历脱酰胺(Gimeno和Moller,Trends Endocrinol Metab.2014Jun;25(6):303-11;美国专利No.8,361,963;Hecht等,PLoS One.2012;7(11):e49345;美国专利公开No.2007/0293430;WO 2006/0065582),有可能限制含有FGF-21的药物组合物的储存期限。聚集体及脱酰胺形式的治疗性多肽可潜在地增加免疫原性(参见美国卫生及公共服务部(U.S.Department of Health and Human Services),“Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products”,2014年8月;Subramanyam(编),“Therapeutic Protein Immunogenicity Focus Group Newsletter”,American Association of Pharmaceutical Scientists,第1卷,第3期(2011年12月))。

[0008] 以WO 2008/121563和美国专利公开No.2008/0255045公开的先前工作指示,经修饰以在特定位置含有连接至聚(乙二醇)的非天然编码的氨基酸的一些人FGF-21多肽展现出增加的体内半衰期和/或保留的生物活性。然而,例示的人FGF-21多肽不包括本文所述的序列缺失或取代。

[0009] 纤维化是在器官或组织中过量纤维结缔组织的形成。纤维组织的过量沉积与可导

致器官或组织功能损伤的病理性条件相关。受影响器官可包括肺(肺纤维化(lung/pulmonary fibrosis))、肝脏(肝纤维化(liver/hepatic fibrosis))、肾脏(肾纤维化(kidney/renal fibrosis))及心脏(心脏纤维化)。纤维化还可影响其他组织及器官,包括关节、皮肤、肠、骨髓及其他组织及器官。例示性纤维化病况或疾病包括但不限于非酒精性脂肪性肝炎(NASH),其影响肝脏;糖尿病性肾脏疾病及糖尿病性肾病变,其影响肾脏;及代谢性心脏衰竭,其影响心脏。例如,NASH的特征在于食用极少或不食用酒精的人的肝脏中的脂肪、炎症和损伤且可导致肝硬化。NASH倾向于在通常具有升高的血脂水平和患糖尿病或前驱糖尿病的超重或肥胖中年人中诊断出来。

[0010] 本发明的实施方案此外还阐述了与FGF-21多肽的活性和生产相关的问题,具有改进的生物学或药理学特性(如改进的治疗性半衰期)的FGF-21多肽的生产,和治疗或预防疾病和病症的方法。

发明内容

[0011] 本文提供修饰的FGF-21多肽,其包含具有选自SEQ ID NO:1-7的氨基酸序列的多肽,只是其中所述氨基酸序列包含:(i)2至19个氨基酸(如5至19个氨基酸)的内部缺失,其中所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸116至134对应的区域内,其中所述内部缺失由长度为0至12个氨基酸的置换肽置换;和(ii)9个或少于9个额外氨基酸取代、缺失和/或插入。

[0012] 本文还提供包含本文所述的修饰的FGF-21多肽的任一种和药学上可接受的载剂或赋形剂的组合物。

[0013] 本文提供修饰的FGF-21多肽,其包含具有选自SEQ ID NO:1-7的氨基酸序列的多肽,只是其中所述氨基酸序列包含:(i)2至19个氨基酸(如5至19个氨基酸)的内部缺失,其中所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸116至134对应的区域内,其中所述内部缺失由长度为0至12个氨基酸的置换肽置换;和(ii)9个或少于9个额外氨基酸取代、缺失和/或插入。

[0014] 本文还提供在对其有需要的患者中调节葡萄糖及脂质稳态、葡萄糖摄入、GLUT 1表达和/或葡萄糖、甘油三酯、胰岛素或胰高血糖素血清浓度的至少一项的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0015] 本文还提供在对其有需要的患者中或所述患者的血液、血清样品或另外的样品中增加胰岛素敏感性、增加脂联素水平、降低血糖水平、降低胰高血糖素水平、降低甘油三酯水平、降低果糖胺水平、降低低密度胆固醇水平或降低C反应性蛋白水平的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0016] 本文还提供在对其有需要的患者中治疗选自如下的病况或病症的方法:肥胖、糖尿病、胰腺炎、胰岛素抗性、高胰岛素血症、葡萄糖不耐症、高血糖症、代谢综合征、葡萄糖耐量受损、葡萄糖清除不足、高血糖、A型胰岛素抗性、C型胰岛素抗性(AKA HAIR-AN综合征)、罗伯森-门登荷综合征(Rabson-Mendenhall Syndrome)、多诺霍氏综合征(Donohue's Syndrome)或矮怪病(Leprechaunism)、雄激素过多症、多毛症或黑棘皮病、和普拉德-威利综合征(Prader-Willi syndrome),其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0017] 本文还提供在对其有需要的患者中治疗1型糖尿病、2型糖尿病或肥胖的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0018] 本文还提供治疗纤维化相关疾病的方法,其包括向对其有需要的患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0019] 本文还提供治疗纤维化相关疾病的方法,其包括向对其有需要的患者施用有效量的包含本文所述的修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂的组合物。

[0020] 本文还提供在对其有需要的患者中治疗肝纤维化或肝硬化的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0021] 本文还提供在对其有需要的患者中治疗或预防NASH的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0022] 本文还提供治疗NASH和/或肝纤维化的方法,其包括向对其有需要的患者施用有效量的包含本文所述的修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂的组合物。

[0023] 本文还提供在对其有需要的患者中降低肝脂肪分数的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽,其中所述患者任选地处于患上NASH的风险或已诊断患有NASH。

[0024] 本文还提供在对其有需要的患者中增加脂联素水平(如血浆总脂联素和/或高分子量脂联素)的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽,其中所述患者任选地处于患上NASH的风险或已诊断患有NASH。

[0025] 本文还提供在对其有需要的患者中治疗心脏衰竭或心脏纤维化的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0026] 本文还提供在对其有需要的患者中治疗肾脏或肾纤维化的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0027] 本文还提供在对其有需要的患者中治疗肺纤维化的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0028] 本文还提供在对其有需要的患者中治疗纤维化相关疾病的方法,其包括向患者施用有效量的包含一个或多个非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽,其中所述修饰的FGF-21多肽与具有选自SEQ ID NO:1-7和201的氨基酸序列的人FGF-21多肽具有至少90%同一性,其中所述纤维化相关疾病选自NASH、肝纤维化、糖尿病性肾脏疾病、慢性肾病、肾纤维化、肺纤维化、心脏纤维化、心脏衰竭及代谢性心脏衰竭。

[0029] 附图简述

[0030] 图1A至B.例示性的修饰的FGF-21多肽序列。指示的坐标相对于SEQ ID NO:1的野生型FGF-21多肽。完整多肽各包含N末端序列MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSP ESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY,然后是位置108处的指示氨基酸,然后是标记为“氨基酸109-149”的区域的指示序列,然后是序列PGILAPQPPDVGSSDPLSM,然后是标记为“氨基酸169-181”的区域的指示序列。修饰的FGF-21多肽的完整氨基酸序列还示于下文实施例4中。

[0031] 图2.聚乙二醇化的化合物1及聚乙二醇化的化合物2的体外FGF-21活性的例示性剂量反应曲线(在基于细胞的测定法中通过胞外信号调节激酶(ERK)1/2的FGF21依赖性磷酸化测量)。

[0032] 图3.用于评估修饰的FGF-21多肽的热稳定性进行的差示扫描量热法(DSC)的代表性结果。在此实例中,显示了聚乙二醇化的化合物2具有高出聚乙二醇化的化合物1约8℃的转变中点(“Tm”)温度。热可逆性>95%(未显示)。

[0033] 图4.用于评估修饰的FGF-21多肽的热稳定性进行的热扫描荧光分析(TSF)的代表性结果。在此图中,显示了化合物10具有高出化合物1(具有野生型FGF-21序列,但其中包括N末端甲硫氨酸以在大肠杆菌(E.coli)中表达)约8℃的转变中点(“Tm”)温度。

[0034] 图5.左小图:25℃聚乙二醇化的化合物1及聚乙二醇化的化合物2随时间的脱酰胺化的测量(通过电荷异质性表示)。聚乙二醇化的化合物2表现出减少的电荷异质性形成,指示脱酰胺化大幅减慢。右小图:40℃各自处于pH 7.0和7.5mg/ml的蛋白质浓度的蔗糖/组氨酸缓冲液中的聚乙二醇化的化合物1及聚乙二醇化的化合物2随时间的聚集体形成的测量(通过大小排阻色谱测量)。聚乙二醇化的化合物2表现出减少的聚集体形成。总之,这些结果能够预测相对于聚乙二醇化的化合物1,聚乙二醇化的化合物2具有更佳的储存稳定性和配制至较高浓度的能力。

[0035] 图6.在pH 6.5处于蔗糖/组氨酸缓冲液中(上方小图)、在pH 7.0处于蔗糖/组氨酸缓冲液中(中间小图)及在pH 8.3处于蔗糖/TRIS缓冲液中(下方小图)修饰的FGF-21多肽随时间的高分子量(HMW)聚集体形成的测量。相比于pH 8.3处,在pH 6.5及pH 7.0处的HMW聚集体形成更为明显。大多数FGF-21变体表现出相对于聚乙二醇化的化合物1减少的HMW聚集体形成,但对于少数化合物,HMW聚集体形成与化合物1类似或更高。

[0036] 图7.在pH 6.5处于蔗糖/组氨酸缓冲液中(上方小图)、在pH 7.0于蔗糖/组氨酸缓冲液中(中间小图)及在pH 8.3于蔗糖/TRIS缓冲液中(下方小图)修饰的FGF-21多肽的脱酰胺化倾向的测量(通过随时间的酸性变体的形成表示)。与聚乙二醇化的化合物1相比,所有所示化合物都表现出减少的电荷酸性变体形成,指示降低的脱酰胺化。

[0037] 图8.修饰的FGF-21多肽的溶解度的测量。给定多肽浓度处相对较低的高分子量聚集体形成指示较大溶解度,由此使得能够配制为较大浓度。测试化合物的蛋白质浓度相对于高分子量(HMW)种类的百分比的观察结果经由pH7.2处的PBS缓冲液中的活塞流过滤测定法(plug flow filtration assay)来确定。线性拟合至这些观察结果中的每一项的线性斜率用于估计蛋白质聚集倾向。

[0038] 图9.在7天蛋白和外周血液单核细胞(PBMC)温育之后具有CD4+T细胞增殖响应的供体的百分比。对照蛋白是具有已知T细胞活化特性的大肠杆菌表达的蛋白。比较非聚乙二醇化经修饰的FGF-21化合物与化合物1(具有野生型FGF-21序列,但其中包括N末端甲硫氨酸以在大肠杆菌中表达)。“ConA”是伴刀豆球蛋白A(一种已知免疫原性蛋白)的缩写。

[0039] 图10.在向ob/ob小鼠单次S.C.施用0.05mg/kg之后聚乙二醇化的化合物1及聚乙二醇化的化合物2的药代动力学分析。修饰的FGF-21化合物的水平以总计与C-末端完整(活性)多肽二者测量。与聚乙二醇化的化合物1相比,聚乙二醇化的化合物2表现出对于C-末端完整形式大得多的总AUC,指示聚乙二醇化的化合物2的体内蛋白水解大幅降低。结果图示于上方小图中且药代动力学参数列表于左下方小图(聚乙二醇化的化合物1)及右下方小图(聚乙二醇化的化合物2)中。

[0040] 图11A至B.向食蟹猴(cynomolgus monkeys)施用后的聚乙二醇化的化合物1和聚乙二醇化的化合物2的药代动力学分析。修饰的FGF-21化合物的水平以(A)总计和(B)C-末

端完整(活性)多肽测量。与聚乙二醇化的化合物1相比,聚乙二醇化的化合物2表现出对于C-末端完整形式大得多的总AUC,指示聚乙二醇化的化合物2的体内蛋白水解大幅降低。

[0041] 图12.ob/ob小鼠中重复给药研究的第21天的相对于介质的糖化血红蛋白(HbA1c)变化。

[0042] 图13.ob/ob小鼠中重复给药研究的21天的体重。

[0043] 图14.ob/ob小鼠中重复给药研究的21天的体重百分比变化。

[0044] 图15.ob/ob小鼠中21天重复给药研究期间的血浆胰岛素浓度。

[0045] 图16.ob/ob小鼠中21天重复给药研究期间的血浆葡萄糖浓度。

[0046] 图17.ob/ob小鼠中21天重复给药研究期间的AUC血浆葡萄糖浓度变化,表示为与介质处理对照的百分比差异。

[0047] 图18.ob/ob小鼠中21天重复给药研究期间的血浆甘油三酯浓度。

[0048] 图19.Stelic NASH小鼠研究中的体重变化。

[0049] 图20.Stelic NASH小鼠研究中的总食品消耗。

[0050] 图21.Stelic NASH小鼠研究中的体重。

[0051] 图22.Stelic NASH小鼠研究中的肝脏重量。

[0052] 图23.Stelic NASH小鼠研究中的肝-体重比。

[0053] 图24.Stelic NASH小鼠研究中的全血葡萄糖。

[0054] 图25.Stelic NASH小鼠研究中的血浆ALT。

[0055] 图26.Stelic NASH小鼠研究中的血浆甘油三酯。

[0056] 图27.Stelic NASH小鼠研究中的总血浆胆固醇。

[0057] 图28.Stelic NASH小鼠研究中的肝脏甘油三酯。

[0058] 图29.Stelic NASH小鼠研究中的肝脏胆固醇。

[0059] 图30A至B.Stelic NASH小鼠研究中HE染色肝脏切片的代表性显微照片。

[0060] 图31.Stelic NASH小鼠研究中的NAFLD活性评分。

[0061] 图32A.Stelic NASH小鼠研究中的脂肪变性评分。

[0062] 图32B.Stelic NASH小鼠研究中的小叶炎症评分。

[0063] 图32C.Stelic NASH小鼠研究中的肝细胞鼓起评分。

[0064] 图33A至B.Stelic NASH小鼠研究中的天狼星红染色肝脏切片的代表性显微照片。

[0065] 图34.Stelic NASH小鼠研究中的纤维化区域。

[0066] 图35A至B.Stelic NASH小鼠研究中的F4/80免疫染色肝脏切片的代表性显微照片。

[0067] 图36.Stelic NASH小鼠研究中的炎症区域。

[0068] 图37A至B.Stelic NASH小鼠研究中油红染色肝脏切片的代表性显微照片。

[0069] 图38.Stelic NASH小鼠研究中的脂肪沉积区域。

[0070] 图39A至D.Stelic NASH小鼠研究中的相对基因表达。(A)α-SMA、(B)TIMP-1、(C)1型胶原和(D)TGF-β的表达结果。

[0071] 图40A至D.融合至Fc域、PKE Adnectin或人血清白蛋白多肽的例示性修饰的FGF-21多肽序列。“融合排列”描述了融合蛋白的由N至C末端的通常取向,其意在说明(但不限于)对应多肽序列。HuSA(C34A):具有氨基酸序列SEQ ID NO:321的修饰的人血清白蛋白;

HuSA(C34A;des Leu-585):具有氨基酸序列SEQ ID NO:322的修饰的人血清白蛋白;PKE(1):具有氨基酸序列SEQ ID NO:319的PKE Adnectin;PKE(2):具有氨基酸序列SEQ ID NO:320的PKE Adnectin。后面有数字的L表示接头;FGF-21(Cmp.2)表示含有内部缺失及置换肽的FGF-21序列(具体而言为化合物2)且FGF-21(Cmp.1)表示缺乏所述缺失及置换肽的FGF-21序列(具体而言为化合物1)。FGF-21(Cmp.1)和FGF-21(Cmp.2)可包括或缺乏化合物1及2中所含有的N末端甲硫氨酸。Fc多肽序列的变体形式以圆括号标识,例如Fc(hIgG1a_191)。标记FGF-21-1aa(Cmp.2)和FGF-21-3aa(Cmp.2)是指通过自其C末端缺失所述数量的氨基酸(分别为1或3)而修饰的化合物2序列。

[0072] 图41.融合至Adnectin融合配偶体的修饰的FGF-21多肽的溶解度的测量。给定多肽浓度处相对较少的高分子量聚集体形成指示较大溶解度,由此使得能够配制为较大浓度。测试化合物的蛋白质浓度相对于高分子量(HMW)种类的百分比的观察结果经由pH为7.2的PBS缓冲液中的活塞流过滤测定法来确定。线性拟合至这些观察结果中的每一项的线性斜率用于估计蛋白质聚集倾向。

[0073] 图42A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的体重。A.用介质或PEG-化合物(“PEG-Cmpd”)1处理9至12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。

[0074] 图43A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的肝脏重量。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。经9-15周处理的小鼠的肝脏重量显著降低($p<0.001$)。

[0075] 图44A至B.Stelic NASH小鼠研究中的处理组的肝-体重比。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。经9-12周或9-15周处理的小鼠的肝-体重比显著降低(分别为$p<0.01$及$p<0.001$)。

[0076] 图45A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的右肾重量。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。

[0077] 图46A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的左肾重量。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。

[0078] 图47A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的全血葡萄糖。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。经9-15周处理的小鼠的全血葡萄糖显著降低($p<0.05$)。

[0079] 图48A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的血浆ALT。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。经9-15周处理的小鼠的血浆ALT显著降低($p<0.01$)。

[0080] 图49A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的血浆甘油三酯。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。

[0081] 图50A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的血浆总胆固醇。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。

[0082] 图51A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的肝脏甘油三酯。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。经9-12周或9-15周处理的小鼠的肝脏甘油三酯显著降低(分别为$p<0.01$及$p<0.001$)。

[0083] 图52A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的肝脏胆固醇。A.用介质或PEG-化合物

1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。经9-12周或9-15周处理的小鼠的肝脏胆固醇显著降低(分别为p<0.01及p<0.001)。

[0084] 图53A至H.用介质(A-B)或PEG-化合物1(C-D)处理9-12周和用介质(E-F)或PEG-化合物1(G-H)处理9-15周的小鼠的HE染色肝脏切片的代表性显微照片。

[0085] 图54A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的NAFLD活性评分。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。经9-12周或9-15周处理的小鼠的NAFLD活性评分显著降低(分别为p<0.01及p<0.001)。

[0086] 图55A至H.用介质(A-B)或PEG-化合物1(C-D)处理9-12周及用介质(E-F)或PEG-化合物1(G-H)处理9-15周的小鼠的天狼星红染色肝脏切片的代表性显微照片。

[0087] 图56A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的肝纤维化区域的概述。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。用PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的纤维化区域显著降低(p<0.05)。

[0088] 图57A至H.用介质(A-B)或PEG-化合物1(C-D)处理9-12周及用介质(E-F)或PEG-化合物1(G-H)处理9-15周的小鼠的F4/80免疫染色肝脏的代表性显微照片。

[0089] 图58A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的炎症区域的概述。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。

[0090] 图59A至H.用介质(A-B)或PEG-化合物1(C-D)处理9-12周和用介质(E-F)或PEG-化合物1(G-H)处理9-15周的小鼠的油红染色肝脏切片的代表性显微照片。

[0091] 图60A至B.Stelic NASH小鼠研究中处理组的脂肪沉积区域的概述。A.用介质或PEG-化合物1处理9-12周的小鼠的比较。B.用介质或PEG-化合物1处理9-15周的小鼠的比较。经9-12周或9-15周处理的小鼠的脂肪沉积区域显著降低(均为p<0.001)。

[0092] 图61.Stelic NASH小鼠研究中的血清总脂联素测量。在来自处理5-9周或7-9周之间的小鼠的末端血浆样品中,与介质处理的小鼠相比,用3.0mg/kg的PEG-化合物1处理的小鼠中血清总脂联素显著增加(p<0.001,Dunnett's T检验)。

[0093] 图62.Stelic NASH小鼠研究中的血清总脂联素测量。在来自第12或15周的小鼠的末端血浆样品中,与介质处理的小鼠相比,用3.0mg/kg的PEG-化合物1处理的小鼠中血清总脂联素显著增加(p<0.05,Dunnett's T检验)。

[0094] 图63.三种FGF21变体的浓度-响应曲线:5h Elk1-荧光素酶测定法中的N末端His标记的化合物1(His-Cmpd 1)、PEG-化合物1(PEG-Cmpd 1)和PEG-化合物2(PEG-Cmpd 2)。值来自6个独立实验,每个实验重复3或4次。Z'值在0.6-0.9变化指示可接受的测定质量(Z'>0.5)。

[0095] 图64.基于细胞的Elk1-荧光素酶测定法中测量的FGF-21变体的效力。各数据点指示个体重复且水平棒表示均值。值表示为以摩尔计的测量的EC_{50}值的以10为底的对数。

[0096] 图65.C57BL/6J小鼠中单次急性剂量的PEG-化合物2对百分比体重变化的影响。用介质(250mM蔗糖/20mM Tris,pH 8.3)或0.03、0.1、0.3或1.0mg/kg的PEG-化合物2处理C57BL/6J小鼠,n=10/组。确定基线(0)、SC给药后24、48、72和144h时C57BL/6J小鼠的百分比体重变化。所有值为均值±SEM*P<0.05、***P<0.001、****P<0.0001相对于介质,(单因素ANOVA,随后为Dunnett's检验)。

[0097] 图66A.C57BL/6J小鼠中单次急性剂量的PEG-化合物2对血浆总脂联素的影响。确

定基线(0)、SC给药后24、48、72和144h时的血浆总脂联素浓度。用介质(250mM蔗糖/20mM Tris,pH 8.3)或0.03、0.1、0.3或1.0mg/kg的PEG-化合物2处理非空腹C57BL/6J小鼠,n＝10/组。所有值为均值±SEM**P<0.01、***P<0.001、****P<0.0001相对于介质,(单因素ANOVA,随后为Dunnett's检验)。

[0098] 图66B.C57BL/6J小鼠中单次急性剂量的PEG-化合物2对血浆总脂联素的百分比变化的影响。用介质(250mM蔗糖/20mM Tris,pH 8.3)或0.03、0.1、0.3或1.0mg/kg的PEG-化合物2处理C57BL/6J小鼠,n＝10/组。确定基线、SC给药后24、48、72及144h时的血浆总脂联素浓度,并确定相对于基线的百分比变化。所有值为平均值±SEM**P<0.01、***P<0.001、****P<0.0001相对于介质,(单因素ANOVA,随后为Dunnett's检验)。

[0099] 图67A.C57BL/6J小鼠中FGF-21变体对血浆总脂联素的影响。0.3与1mpk剂量的PEG-化合物2与PEG-化合物20处理在给药后6天导致总血浆脂联素显著增加(*P<0.05、**P<0.01、***P<0.001)。

[0100] 图67B.C57BL/6J小鼠中FGF-21变体对血浆总脂联素的影响。在第3和6天,与介质处理的对照中总脂联素的百分比变化相比,54.3nmol/kg剂量的PEG-化合物2、化合物105和化合物112使总脂联素的百分比变化显著增加。

[0101] 图67C.C57BL/6J小鼠中FGF-21变体对血浆总脂联素的影响。在第3和6天,18.1与54.3nmol/kg剂量的化合物182使血浆总脂联素的百分比变化显著增加(与介质对照中观察到的百分比变化相比)。

[0102] 图67D.C57BL/6J小鼠中FGF-21变体对血浆总脂联素的影响。在给药后第3和6天,与介质处理的对照相比,化合物171与化合物181使血浆总脂联素自基线的百分比变化以剂量依赖性方式显著增加。

[0103] 图67E.C57BL/6J小鼠中FGF-21变体对血浆总脂联素的影响。在第3和6天以18.1nmol/kg和54.3nmol/kg的化合物170使血浆总脂联素自基线的百分比变化(与介质相比)显著增加。

[0104] 图67F.C57BL/6J小鼠中FGF-21变体对血浆总脂联素的影响。在第3和6天,与介质处理的对照相比,10mg/kg剂量的PEG-化合物1使血浆总脂联素自基线的百分比变化显著增加。

[0105] 图68.PEG-化合物2对白蛋白尿(尿液ACR)的影响。#P<0.05,疾病(unix db/db,n＝9-10)相对于正常(db/m瘦,n＝10-12)。*P<0.05,PEG-化合物2(n＝13-14)相对于介质。各个时间点各对的ANOVA与Dunnett's事后检验。数据以均值±S.E.M形式表示。

[0106] 图69.显示了用异丙肾上腺素和PEG-化合物2处理的第3周时的心脏羟脯氨酸(HP)含量。各数据点表示标准化至蛋白质的个体小鼠全心脏HP含量。*:P<0.05,相对于Sham+介质,**:P<0.05,相对于Iso+介质(单因素ANOVA,随后为Bonferroni's检验)。

[0107] 图70A-C.Stelic NASH小鼠研究中FGF-21变体对血清总脂联素(图70A)、血清高分子量(HMW)脂联素(图70B)和HMW脂联素与总脂联素的比率(图70C)的影响。所有值为均值±SEM。

[0108] 图71A至B.NASH动物模型中的肝脏重量(图71A)及肝脏重量与体重(BW)的比率(图71B)。

[0109] 图72.NASH动物模型中FGF-21变体的作用。在用聚乙二醇化的化合物1(“PEG-Cmpd

1”)、聚乙二醇化的化合物2(“PEG-Cmpd 2”)或化合物170(“Cmpd 170”)处理之后,评估动物的体重(图72A)、肝脏重量(图72B)、肝脏与体重的比率(图72C)、肝脏甘油三酯(图72D)、血浆ALT(图72E)、肝脏胆固醇(图72F)和血浆甘油三酯(图72G)。与介质处理对照的统计学显著差异如所示。n.s.:未检测到统计显著差异(即P≥0.05)。

[0110] 发明详述

[0111] 定义

[0112] 如本文及随附权利要求书中所用的,除非上下文另有明确规定,否则单数形式“一(a/an)”及“所述”包括复数个指代物。因此,例如,提及“FGF-21”、“FGF-21多肽”或“修饰的FGF-21多肽”是指一个或多个此类蛋白且包括本领域普通技术人员已知的其等同物等。

[0113] 除非另有定义,否则本文中所用的所有技术及科学术语具有与本领域普通技术人员通常所理解的含义相同的含义。

[0114] 血糖浓度正常:在本发明中,术语血糖浓度正常或血糖正常是指具有正常血糖浓度的状态。例示性正常人血糖浓度空腹成人中为70mg/dl至99mg/dl,且在餐后成人中为70mg/dl至140mg/dl。持续血糖浓度正常是指例如在用本发明的修饰的FGF-21多肽持续处理期间维持血糖浓度正常相当长时段,例如至少一天、至少两天、至少一周、至少两周、至少一个月或更长。

[0115] 术语“半衰期延长部分”(在本文中也称为“HLEM”)是指任选地经由非天然编码的氨基酸直接或经由接头与本文所述的修饰的FGF-21多肽共价连接(“缀合”或“融合”)的药学上可接受的部分、域或分子,与如未缀合形式的修饰的FGF-21多肽或野生型FGF-21多肽的比较剂相比,其会阻止或减缓修饰的FGF-21多肽的体内蛋白降解或其他活性降低的化学修饰,增加半衰期和/或改进或改变其他药代动力学或生物物理学特性,包括但不限于增加吸收速率、降低毒性、改进溶解度、减少蛋白质聚集、增加生物活性和/或修饰的FGF-21多肽的靶标选择性、增加工艺性和/或降低修饰的FGF-21多肽的免疫原性。术语“半衰期延长部分”包括非蛋白质半衰期延长部分,如水溶性聚合物,如聚乙二醇(PEG)或离散PEG、羟乙基淀粉(HES)、脂质、支链或无支链酰基、支链或无支链C8-C30酰基、支链或无支链烷基及支链或无支链C8-C30烷基;及蛋白质半衰期延长部分,如血清白蛋白、转铁蛋白、Adnectin(例如白蛋白结合的或药代动力学扩展(PKE)的Adnectin)、Fc域和非结构化多肽,如XTEN和PAS多肽(例如由氨基酸Pro、Ala和/或Ser构成的构象无序的多肽序列),及前述任一项的片段。FGF-21或FGF家族成员的晶体结构及其与FGF受体的相互作用的研究可指示某些氨基酸残基具有可完全或部分接近溶剂的侧链。这些位置的非天然编码的氨基酸的侧链可指向远离蛋白质表面且进入溶剂中,从而连接至例如水溶性聚合物。

[0116] 如本文所用,术语“白蛋白结合部分”是指能够结合至白蛋白的任何化学基团,即具有白蛋白结合亲和力,例如白蛋白结合或PKE Adnectin。

[0117] “白蛋白结合亲和力”可通过本领域已知的若干方法来确定。在一种方法中,待量测的化合物用例如125I或3H放射性标记且与固定化白蛋白温育(Kurtzhals等,Biochem.J.,312,725-731(1995))。计算相对于标准物的化合物的结合。在另一方法中,相关化合物经放射性标记且其与固定于例如SPA珠上的白蛋白(闪烁迫近测定法珠粒,PerkinElmer目录号RPNQ0001)的结合通过一系列稀释度的待测量的化合物竞争。竞争的EC50值是化合物亲和力的量度。在第三种方法中,在不同浓度的白蛋白处测量化合物的受

体亲和力或效力,且化合物的相对亲和力或效力的改变作为白蛋白浓度的函数反映其对白蛋白的亲和力。

[0118] 术语“热稳定性”是指多肽加热时抵抗解折叠的能力。一般地,分子的热稳定性越高,多肽解折叠所需的温度越高。确定多肽的热稳定性的例示性方法是在本文实施例6中所述的差示扫描量热法(DSC)和热扫描荧光方法。热稳定性可相对于比较剂化合物来确定,例如用以鉴定热稳定性增加的多肽。

[0119] 术语“聚集”是指多肽与其他分子(如同一多肽的其他分子)形成非共价连接复合物,由此形成高分子量复合物的倾向。测量聚集体形成的例示性方法包括如本文实施例7中所述的分析型大小排阻色谱。可确定相对于比较剂化合物的相对聚集量,例如用以鉴定具有降低的聚集的多肽。

[0120] 术语“脱酰胺化”是指多肽内的氨基酸残基自发经历脱酰胺化反应,由此改变氨基酸的化学结构且可能影响多肽功能的倾向。测量脱酰胺化的例示性方法包括如本文实施例7中所述的成像毛细管等电聚焦(icIEF)。可相对于比较剂化合物来确定脱酰胺化的相对量,例如用以鉴定具有降低的脱酰胺化的多肽。

[0121] 术语“体内蛋白水解”是指多肽在引入至活系统中时(例如注射至生物体中时)的裂解,其可由该生物体中存在的蛋白酶导致。蛋白水解可影响多肽的生物活性或半衰期。例如,野生型FGF-21可经历C末端裂解,产生截短的非活性多肽。测量FGF-21体内蛋白水解的例示性方法是本文实施例10中所述的基于中型探索(Meso Scale Discovery,MSD)的电化学发光免疫吸附测定法(ECLIA)。可相对于比较剂化合物来确定体内蛋白水解的相对量,例如用以鉴定具有降低的体内蛋白水解的多肽。

[0122] 术语“溶解度”是指可溶解于另一物质中的物质的量,例如可溶解于水溶液中的未修饰的或修饰的FGF-21多肽的量。测量未修饰的或修饰的FGF-21多肽的溶解度的例示性方法是描述于本文实施例8中的活塞流溶解度测试。可相对于比较剂化合物来确定相对溶解度,例如用以鉴定具有增加的溶解度的多肽。

[0123] 术语“生物活性”是指分子影响与生物体(包括但不限于病毒、细菌、噬菌体、转座子、朊病毒、昆虫、真菌、植物、动物和人)相关的生物系统的任何物理或生物化学特性、通路、分子或相互作用的能力。例如,在未修饰的或修饰的FGF-21的情况下,生物活性包括通过如本文所述的FGF-21进行的功能的任一种。确定分子是否具有野生型FGF-21(如SEQ ID NO:1的野生型FGF-21多肽)的至少一种生物活性的例示性方法可包括实施例5中所述的体外测定或实施例17中所述的体外测定。可相对于比较剂化合物来确定相对生物活性水平,例如用以鉴定对于预期治疗用途具有生物活性或具有足够高的生物活性的多肽,例如具有为比较剂的EC50的少于5倍、10倍、少于20倍、少于50倍或少于100倍的EC50。

[0124] 本文所述比较剂化合物可为缺乏修饰的(如本文所述的修饰)另一序列。例如,比较剂化合物可以是无内部缺失、无置换肽或无融合配偶体的相同的修饰的FGF-21多肽序列。例示性比较剂化合物包括但不限于SEQ ID NO:1的野生型FGF-21多肽、SEQ ID NO:201的修饰的FGF-21多肽或另外的比较剂化合物。在一些实施方案中,比较剂化合物可含有至少一个非天然编码的氨基酸,其可连接至接头、聚合物、生物活性分子、肽、多肽或本文所述的半衰期延长部分(例如PEG)。在一些实施方案中,比较剂化合物可含有至少一个非天然编码的氨基酸,其可以不连接至接头、聚合物、生物活性分子、肽、多肽或本文所述的半衰期延

长部分(例如PEG)。在一些实施方案中,比较剂化合物可含有额外氨基酸取代、缺失和/或插入。在一些实施方案中,比较可用聚乙二醇化或非聚乙二醇化形式的多肽进行;在前者的情况下,比较可用包含或不包含非天然编码的氨基酸的多肽进行。在一些实施方案中,比较剂化合物可含有任选地通过肽置换的内部缺失(例如与比较剂比较的化合物中的相同内部缺失和置换肽),但无融合配偶体。

[0125] 术语"Fc"、"Fc域"或"Fc区"是指Fc域或其片段。Fc可为氨基酸序列与自然界中所见的Fc区的氨基酸序列一致的天然Fc区,或氨基酸序列与天然Fc区的氨基酸序列至少有一个氨基酸不同的变异Fc区。在一些实施方案中,相比于天然Fc区或相比于亲本多肽的Fc区,Fc区具有至少一个氨基酸取代,例如在天然Fc区或亲本多肽的Fc区中具有约一至约二十个,约一至约十个或约一至约五个氨基酸取代、缺失或插入。在本文中,Fc区与天然Fc区和/或与亲本多肽的Fc区可具有至少约80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的序列同一性。在一些实施方案中,Fc区与天然Fc区和/或亲本多肽的Fc区可具有至少约90%的序列同一性。在一些实施方案中,Fc区与天然Fc区和/或亲本多肽的Fc区可具有至少约95%的序列同一性。Fc区的例示性氨基酸序列包括SEQ ID NO:302和323-335。Fc区的例示性域或片段包括SEQ ID NO:303-309的多肽。

[0126] 如本文所用,"功能性Fc区"是指保持结合FcRn的能力的Fc域或其片段。

[0127] 术语"对应"是指通过与参考序列比较而鉴定的多肽或多核苷酸序列内的位置("位置对应"或"对应的位置")或区域("区域对应"或"对应的区域"。参考序列可为野生型或未经修饰的序列,如SEQ ID NO:1的野生型FGF-21多肽。对应的位置或区域可通过序列与参考序列的比对鉴定。例如,序列中"与SEQ ID NO:1中的氨基酸108对应的位置"是指当序列与SEQ ID NO:1比对时序列中与SEQ ID NO:1中的氨基酸108处于相同比对栏的位置。在比对中,氨基酸或核苷酸可以匹配或可以不匹配参考序列中的对应位置中的氨基酸或核苷酸。当提及对应区域的缺失时,除非缺失区域已经被可能与缺失区域的一部分比对的置换肽置换,否则比对可在与缺失区域内的各位置对应的比对栏中含有缺口。因此,对于经置换肽置换的缺失,在进行比对时可从序列省略置换肽,以使得比对应在整个缺失区中应当含有缺口。或者,在鉴定对应区域时可忽略置换肽(若存在的话)。

[0128] 可使用常规比对算法来获得用于鉴定对应位置或对应区域的比对,所述比对算法如Blast(Altschul等,J Mol Biol.1990年10月5日;215(3):403-10)、Smith-Waterman(Smith和Waterman,J Mol Biol.1981年3月25日;147(1):195-7)或Needleman-Wunsch(Needleman和Wunsch,J Mol Biol.1970年3月;48(3):443-53)。可使用Needleman-Wunsch法以获得最高评分的全局比对(即含有两个序列中的每一残基的比对,但比对可以缺口开始和/或结束)。不论使用Blast法、Smith-Waterman法或Needleman-Wunsch,可使用"默认"参数鉴定最高评分比对,如使用BLOSUM62评分矩阵、11的缺口开放罚分和1的缺口扩展罚分和(当使用Blast进行成对比对时)3的字长。

[0129] "区域"是指多肽或多核苷酸序列的连续部分。区域可通过多肽或多核苷酸内的两个位置鉴定,其指定序列内的区域的开始和末端位置。除非另有说明,否则区域包括限定参考序列内的区域的位置,即包括给定的开始及末端位置。例如,SEQ ID NO:1的区域119-130是指在氨基酸119处起始及在氨基酸130处结束的SEQ ID NO:1的部分,包括氨基酸119及130,其具有序列PGNKSPHRDPAP(SEQ ID NO:73)。

[0130] 术语“缺失”是指从多肽或多核苷酸移除一个或多个(或指定数量的)连续氨基酸或核苷酸。“内部缺失”是指不包括多肽的N或C末端或多核苷酸的5’或3’端的缺失。缺失或内部缺失可通过相对于参考序列指定缺失的开始和末端位置来鉴定。相对于修饰的FGF-21多肽,提及内部缺失一般指定相对于参考FGF-21多肽的区域缺失,如与SEQ ID NO:1的野生型FGF-21多肽的位置对应的区域的缺失,例如SEQ ID NO:1中的氨基酸位置119-130(即PGNKSPHRDPAP(SEQ ID NO:73))。

[0131] “置换肽”是指插入以替代内部缺失或多肽内的其他缺失的氨基酸。置换肽的长度可以不同于内部缺失的长度。例示性置换肽可包含一个或多个甘氨酸、丝氨酸及组氨酸残基,且在一些情况下,包含额外氨基酸残基,如赖氨酸和脯氨酸。然而,应了解,置换肽不限于含有这些特定氨基酸的序列,而是可包括天然氨基酸或非天然编码的氨基酸。置换肽可具有任何长度,例如单个氨基酸(即具有1个氨基酸的长度)、两个或两个以上氨基酸或三个或三个以上氨基酸。长度为零个氨基酸的置换肽表示置换肽并不存在。在一些实施方案中,置换多肽的长度可为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个氨基酸。在一些实施方案中,置换多肽的长度可为1-10、1-7、1-5或1-3个氨基酸。在一些实施方案中,置换多肽长度可为2-7、2-5或2-3个氨基酸。在一些实施方案中,置换多肽的长度可为3个氨基酸。例示性置换肽包括序列G、GG、SG、GSG、GGH、SGG、GSGH(SEQ ID NO:343)、HSG、HHSG(SEQ ID NO:344)、HGSH(SEQ ID NO:345)、GSGP(SEQ ID NO:346)、HGG、HSGG(SEQ ID NO:347)和HGSG(SEQ ID NO:348)。额外的例示性置换肽包括序列K、DKS、HKS、D、Q、KDS和KDSQ(SEQ ID NO:349)。

[0132] “融合配偶体”是指融合至本文所述的修饰的FGF-21多肽的肽或多肽。融合配偶体可融合至N和/或C末端上的修饰的FGF-21多肽。例示性融合配偶体包括但不限于白蛋白、转铁蛋白、Adnectin(例如白蛋白结合或药代动力学扩展(PKE)Adnectin)、Fc域、和非结构化多肽,如XTEN及PAS多肽(例如由氨基酸Pro、Ala和/或Ser构成的构象无序的多肽序列),及前述任一项的片段。融合配偶体可融合至修饰的FGF-21多肽以供任何目的,包括但不限于纯化、工艺性、半衰期延伸、增强的生物物理学特性(例如溶解度或稳定性)、降低的免疫原性或毒性等。

[0133] “连接肽”是指其N与C末端均融合至其他肽或多肽的氨基酸序列。连接肽可存在于例如末端融合(以任何顺序)至修饰的FGF-21多肽及融合配偶体的融合蛋白中。例示性连接肽可包含0个氨基酸(即无连接肽存在)至1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、25、30、35、40、45、50、60或100或大于100个氨基酸。在一些实施方案中,连接肽可包含1至40个、1至30个、1至20个、1至10个、1至5个、2至40个、2至30个、2至20个、2至10个、5至40个、5至30个、5至20个或5至10个氨基酸。在一些实施方案中,连接肽可包含5至20个氨基酸。在一些实施方案中,连接肽可包含10至20个氨基酸。本文所述的某些例示性连接肽可富含于丝氨酸和甘氨酸残基中,然而应了解连接肽不限于此类序列。例示性连接肽包括如下序列:GAGGGGSG(SEQ ID NO:74)、EPKSSD(SEQ ID NO:75)、D,ESPKAQASSVPTAQPQAEGLA(SEQ ID NO:76)、ELQLEESAAEAQDGELD(SEQ ID NO:77)、GQPDEPGGS(SEQ ID NO:78)、GGSGSGSGSGSGS(SEQ ID NO:79)、ELQLEESAAEAQEGELE(SEQ ID NO:80)、GSGSG(SEQ ID NO:81)、GSGC(SEQ ID NO:82)、AGGGGSG(SEQ ID NO:83)、GSGS(SEQ ID NO:84)、QPDEPGGS(SEQ ID NO:85)、GSGSGS(SEQ ID NO:86)、TVAAPS(SEQ ID NO:87)、KAGGGGSG(SEQ ID NO:88)、KGSGSGSGSGSGS(SEQ ID NO:89)、KQPDEPGGS(SEQ ID NO:90)、KELQLEESAAEAQDGELD(SEQ ID

NO:91)、KTVAAPS(SEQ ID NO:92)、KAGGGGSGG(SEQ ID NO:93)、KGSGSGSGSGSGSG(SEQ ID NO:94)、KQPDEPGGSG(SEQ ID NO:95)、KELQLEESAAEAQDGELDG(SEQ ID NO:96)、KTVAAPSGAGGGGSGG(SEQ ID NO:97)、AGGGGSG(SEQ ID NO:98)、GSGSGSGSGSGSG(SEQ ID NO:99)、QPDEPGGSG(SEQ ID NO:100)、TVAAPSG(SEQ ID NO:301)、GGGGSGGGSGGGGGSGGGSGGGGSGGGS(SEQ ID NO:350)、PSPEPPTPEPPSPEP(SEQ ID NO:351)、ELQLEESAAEAQEGELE(SEQ ID NO:352)、SSGGGGSGGGSGGGGGS(SEQ ID NO:353)、GS(SEQ ID NO:354)、GGGGS(SEQ ID NO:355)、EEEEDEEEED(SEQ ID NO:356)、PSPEPPTPEP(SEQ ID NO:357)、GSHHHHHHHHGS(SEQ ID NO:358)、GGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:359)、GGGGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:360)、GSGSGSGSGSGSGSGS(SEQ ID NO:361)、PSTPPTPSPSTPPTPSPS(SEQ ID NO:362)、RGGEEKKKEKEKEEQEERETKTP(SEQ ID NO:363)、GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:364)、PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP(SEQ ID NO:365)、PSTPPTPSPSTPPTPSPSPSTPPTPSPSTPPTPSPS(SEQ ID NO:366)、PSPEP(SEQ ID NO:367)、PSPEPPTPEPPSPEPPTPEP(SEQ ID NO:368)、PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP(SEQ ID NO:369)、PTPEPPSPEPPTPEPPSPEP(SEQ ID NO:370)、PSPEPGGGSPTPEP(SEQ ID NO:371)、PSPEPEEEDPTPEP(SEQ ID NO:372)、PSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEP(SEQ ID NO:373)、PTPEPPSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEPPSPEP(SEQ ID NO:374)、PTPEPPSPEPPTPEPGGGGSPSPEPPTPEPPSPEP(SEQ ID NO:375)、PSPEPTPEPSPEPPTPEPSPEPTPEP(SEQ ID NO:376)、GETGS(SEQ ID NO:377)、GGGGSGGGGS(SEQ ID NO:378)、GETGSSGEGT(SEQ ID NO:379)、GETGSSGEGTGSTGS(SEQ ID NO:380)、GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS(SEQ ID NO:381)、GETGSSGEGTGSTGSGAGES(SEQ ID NO:382)、和GETGSSGEGTGSTGSGAGESGTGESGEGGS(SEQ ID NO:383),即SEQ ID NO:74-100、301、和350-383。

[0134] 术语“纤维化相关疾病”包括其中已观察到纤维化发生或已知或认为纤维化与疾病病因、进展或症状相关或促进疾病病因、进展或症状,或已知或认为随疾病进展而发生纤维化的疾病、病症及病况。纤维化可影响器官或组织,如胰脏、肺、心脏、肾脏、肝脏、眼、神经系统、骨髓、淋巴结、心内膜心肌或腹膜后腔。与纤维化相关的例示性疾病包括但不限于非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝纤维化、前肝硬化、肝硬化、弥散性实质性肺病、囊肿性纤维化、肺或肺纤维化、进行性大规模纤维化、特发性肺纤维化、注射性纤维化、肾脏或肾纤维化、慢性肾病、糖尿病性肾病、局灶性节段性肾小球硬化、膜性肾病、IgA肾病、骨髓纤维化、心脏衰竭、代谢性心脏衰竭、心脏纤维化、白内障性纤维化、白内障、眼部结疤、胰脏纤维化、皮肤纤维化、肠纤维化、肠狭窄、心内膜心肌纤维化、心房纤维化、纵隔纤维化、克罗恩氏病(Crohn’s disease)、腹膜后纤维化、瘢痕疙瘩、肾源性全身纤维化、硬皮病、全身性硬化症、关节纤维化、Peyronie’s综合征、杜普伊特伦氏挛缩(Dupuytren’s contracture)、糖尿病神经病变、黏连性囊炎、酒精性肝病、肝性脂肪变性、病毒性肝炎、胆汁疾病、原发性血红蛋白沉着病、药物相关的肝硬化、隐源性肝硬化、威尔逊氏病(Wilson’s disease)、及α1-抗胰蛋白酶缺乏症、间质性肺病(ILD)、人纤维化肺病、黄斑变性、视网膜病变、玻璃体视网膜病变、心肌纤维化、格雷弗氏眼病(Grave’s ophthalmopathy)、药物诱导的麦角中毒、心血管疾病、动脉粥样硬化/再狭窄、增生性疤痕、原发性或特发性骨髓纤维化和炎症性肠病(包括但不限于胶原性结肠炎)。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可包括肝纤维化、肾脏或肾纤维化、肺或肺纤维化和心脏或心脏性纤维化。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可为肝

纤维化。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可为NASH。

[0135] 词组“医学上并发的肥胖”(有时也称为“病态肥胖”)一般是指一个亚类的肥胖个体的病况,所述个体还具有肥胖相关的或导致的健康并发症。肥胖可通过确定身体质量指数(以千克计的重量除以以米计的高度的平方)来判定,其中身体质量指数为30m/kg^{2}或大于30m/kg^{2}指示肥胖。医学上并发的肥胖中所存在的例示性健康并发症可包括如下一项或多项:2型糖尿病、高血压、阻塞性睡眠呼吸暂停、冠状动脉疾病及其他心血管疾病(包括冠状动脉疾病、中风及充血性心脏衰竭)及血脂异常。其他可存在的健康并发症包括非酒精性脂肪肝病(如脂肪变性、脂肪变性肝炎或肝硬化)、呼吸疾病、阻塞性睡眠呼吸暂停、肥胖换气不足综合征、哮喘、限制性肺病、癌症、骨关节炎、胆石病、胃食道逆流病、妇科异常、不孕症、月经异常、静脉停滞、皮肤问题、擦烂(intertrigo)、蜂窝组织炎、手术或怀孕期间的并发症风险增加、尿失禁及特发性颅内压增高。医学上并发的肥胖还可与普拉德-威利综合征相关。

[0136] 术语“基本上纯的”是指可基本上或实质上不含通常与天然存在的环境(即天然细胞)或宿主细胞(在以重组方式生产的未修饰的或修饰的FGF-21多肽的情况下)中所见的蛋白质相伴或与其相互作用的组分的未修饰的或修饰的FGF-21多肽。可基本上不含细胞物质的未修饰的或修饰的FGF-21多肽包括小于约30%、小于约25%、小于约20%、小于约15%、小于约10%、小于约5%、小于约4%、小于约3%、小于约2%或小于约1%(以干重计)的污染蛋白质的蛋白制剂。当未修饰的或修饰的FGF-21多肽或其变体通过宿主细胞重组生产时,蛋白质的含量可为细胞干重的约30%、约25%、约20%、约15%、约10%、约5%、约4%、约3%、约2%或约1%或更低。当未修饰的或修饰的FGF-21多肽或其变体通过宿主细胞重组生产时,培养基中的蛋白质含量可为细胞干重的约5g/L、约4g/L、约3g/L、约2g/L、约1g/L、约750mg/L、约500mg/L、约250mg/L、约100mg/L、约50mg/L、约10mg/L或约1mg/L以下。因此,如通过本发明的方法生产的“基本上纯的”的未修饰的或修饰的FGF-21多肽可具有至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%的纯度水平,具体地至少约75%、80%、85%的纯度水平,且更具体地至少约90%的纯度水平、至少约95%的纯度水平、至少约99%或更大的纯度水平,如通过适当方法(如SDS/PAGE分析、RP-HPLC、SEC及毛细管电泳)所确定的。

[0137] “重组宿主细胞”或“宿主细胞”是指包括外源性多核苷酸的细胞,与用于插入的方法(例如直接摄取、转导、f-配对(f-mating)或其他本领域已知用于产生重组宿主细胞的方法)无关。外源性多核苷酸可维持为非并入载体,例如质粒,或者可以并入至宿主基因组中。

[0138] 如本文所用,术语“培养基(medium/media)”包括任何培养基、溶液、固体、半固体或刚性支持物,其可负载或含有任何宿主细胞(包括细菌宿主细胞、酵母菌宿主细胞、昆虫宿主细胞、植物宿主细胞、真核宿主细胞、哺乳动物宿主细胞、CHO细胞、原核宿主细胞、大肠杆菌或假单胞菌属(Pseudomonas)宿主细胞)及细胞内含物。因此,该术语可涵盖宿主细胞已生长于其中的培养基,例如未修饰的或修饰的FGF-21多肽已分泌于其中的培养基,包括增殖步骤之前或之后的培养基。术语还可涵盖含有宿主细胞裂解液的缓冲剂或试剂,如在细胞内生产未修饰的或修饰的FGF-21多肽且将宿主细胞裂解或破坏以释放未修饰的或修饰的FGF-21多肽的情况中。

[0139] 术语“抗糖尿病剂”应意指适用于治疗、预防任何葡萄糖代谢病症或其任何并发症

(包括本文所述的病况、疾病或并发症的任一种)或以其他方式降低其严重程度的任何药物。抗糖尿病剂包括胰岛素、噻唑烷二酮类、磺酰脲类、苯甲酸衍生物、α-葡糖苷酶抑制剂等等。本发明的抗糖尿病组合物能够将HbA1c水平自基线降低至少10％或至少50％的变化。抗糖尿病剂包括胰岛素增强剂,如,包括但不限于小分子胰岛素增强剂、牛磺酸、α硫辛酸、桑椹提取物、铬、谷氨酰胺、Enicostemma littorale Blume、野甘草(Scoparia dulcis)、龙蒿(Tarragon)提取物、穿心莲(Andrographis paniculata)、异麦芽糖、海藻糖或D-甘露糖,其可进一步加强胰岛素的分泌或活性。

[0140] 如本文所用,“修饰的FGF-21多肽”、“修饰的成纤维细胞生长因子21”或“修饰的FGF-21”及其未加连字符的形式可互换使用,且应包括那些多肽和蛋白质,所述多肽和蛋白质不同于野生型FGF-21(例如SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:5的野生型人FGF-21)且通常具有至少一种成纤维细胞生长因子21的生物活性,以及FGF-21类似物、FGF-21同种型、FGF-21模拟物、FGF-21片段、杂交FGF-21蛋白、其融合蛋白、寡聚物和多聚物、同系物、糖基化模式变体、变体、剪接变体及突变蛋白(muteins),而无论其生物活性。术语“修饰的FGF-21多肽”和“修饰的FGF-21”涵盖包含一个或多个氨基酸取代、添加或缺失的FGF-21多肽。例如,本发明的修饰的FGF-21多肽包含内部缺失,包括图1中所示的那些内部缺失及本文所述的其他内部缺失。

[0141] 术语“修饰的FGF-21多肽”还涵盖多态性(例如天然存在的FGF-21序列变体)。例如,“P型”的FGF-21在位置174含有脯氨酸(P)(SEQ ID NO:1的成熟多肽中的位置146),而“L型”在位置174含有亮氨酸(L)(SEQ ID NO:5的成熟多肽中的位置146)。例示性的P型FGF-21多肽序列含于SEQ ID NO:1-4中,而例示性L型FGF-21多肽序列含于SEQ ID NO:5-7中。

[0142] 已描述了天然存在的FGF-21中的多种氨基酸位置中的取代。取代包括但不限于调节溶解度或稳定性、增加激动剂活性、增加体内或体外半衰期、增加蛋白酶抗性、使多肽转化为拮抗剂、降低免疫原性或毒性、有助于纯化或工艺性等的那些,且涵盖于术语“修饰的FGF-21多肽”或“经修饰的FGF-21”中。在一些情况下,在修饰的FGF-21多肽内,非天然编码的氨基酸取代可与其他添加、取代或缺失组合以相对于另一FGF-21多肽(例如SEQ ID NO:1的野生型FGF-21多肽、SEQ ID NO:201的修饰的FGF-21多肽或另外的FGF-21多肽,如无该添加、取代或缺失的相同FGF-21多肽,或另外的未修饰的或修饰的FGF-21未修饰的或修饰的多肽)影响修饰的FGF-21多肽的其他生物性状。在一些情况下,其他添加、取代或缺失可增加修饰的FGF-21多肽的稳定性(包括但不限于对蛋白水解降解的抗性)或增加修饰的FGF-21多肽对其受体的亲和力。在一些情况下,其他添加、取代或缺失可增加修饰的FGF-21多肽的药学稳定性。在一些情况下,其他添加、取代或缺失可增加修饰的FGF-21多肽的溶解度(包括但不限于当在大肠杆菌或其他宿主细胞中表达时)。在一些实施方案中,添加、取代或缺失可增加多肽在大肠杆菌或其他重组宿主细胞中表达后的溶解度。在一些实施方案中,除用于并入在大肠杆菌或其他重组宿主细胞中表达后导致增加多肽溶解度的非天然氨基酸的另一位点以外,还选择位点用于以天然编码或非天然氨基酸取代。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含另一添加、取代或缺失,其调节针对FGF-21多肽受体、结合蛋白或相关配体的亲和力,调节与FGF-21受体结合后的信号转导,调节循环半衰期,调节释放或生物利用度,促进纯化,或改进或改变具体施用途径。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含增加修饰的FGF-21对其受体亲和力的添加、取代或缺失。类似地,修饰的FGF-21多肽可包

含化学或酶裂解序列、蛋白酶裂解序列、反应性基团、抗体-结合域(包括但不限于FLAG或多聚His)或其它基于亲和力的序列(包括但不限于FLAG、多聚His、GST等)或连接分子(包括但不限于生物素),其改进检测(包括但不限于GFP)、纯化、运输通过组织或细胞膜、前药释放或活化、修饰的FGF-21尺寸缩减或多肽的其他性状。

[0143] 对于缺乏前导序列的FGF-21的序列,在本文中参见SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2和SEQ ID NO:5。对于具有前导序列的FGF-21的序列,在本文中参见SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:7。在一些实施方案中,本发明的FGF-21多肽与SEQ ID NO:1-7或FGF-21多肽序列任何其他序列实质上相同。已鉴定FGF-21的多种多态性。在美国专利公开No.20010012628和美国专利No.6,716,626中已在相同位置描述了亮氨酸或脯氨酸。相差1个氨基酸(亮氨酸)的N末端前导或信号序列示于美国专利No.6,716,626和美国专利公开No.20040259780中。FGF-21多肽变体或突变体包括但不限于如下文献中所公开的那些变体或突变体:美国专利No.6,716,626;美国专利公开No.2005/0176631、2005/0037457、2004/0185494、2004/0259780、2002/0164713和2001/0012628;WO 01/36640;WO 03/011213;WO 03/059270;WO 04/110472;WO 05/061712;WO 05/072769;WO 05/091944;WO 05/113606;WO 06/028595;WO 06/028714;WO 06/050247;WO 06/065582;WO 06/078463;WO01/018172;WO09/149171;WO10/042747;WO12/066075;WO11/154349;WO13/052311;WO13/188181,其通过提述以其整体并入本文。

[0144] 术语“修饰的FGF-21多肽”还包括天然存在的FGF-21的生物活性片段、生物活性变体和立体异构体以及天然存在的FGF-21的激动剂、模拟物和拮抗剂变体及其多肽融合物。在氨基端、羧基端或二者处包含额外氨基酸的融合物涵盖于术语“修饰的FGF-21多肽”中。例示性融合物包括但不限于例如甲硫氨酰基FGF-21,其中甲硫氨酸连接至由缺乏前导或信号肽或其部分的成熟形式的FGF-21重组表达产生的FGF-21的N末端(甲硫氨酸连接至由例如大肠杆菌中的重组表达产生的FGF-21的N末端)、用于纯化目的融合物(包括但不限于多聚组氨酸或亲和力表位)、与血清白蛋白结合肽(如PKE Adnectin)的融合物和与血清蛋白(如血清白蛋白)的融合物,以及包含FGF-21及一个或多个其他分子(“融合配偶体”)的融合蛋白,所述其他分子包括但不限于血清白蛋白、Fc域、免疫球蛋白恒定区、非结构化多肽和Adnectin及其片段。任何此类片段均可通过标准生物化学方法或通过表达编码片段的多核苷酸由蛋白质来制备。

[0145] 除原本所示的情况外,如本文所用的术语“FGF-21多肽”、“成纤维细胞生长因子21”和“FGF-21”一般涵盖未经修饰(即野生型)的FGF-21及修饰的FGF-21多肽。

[0146] 术语“修饰的FGF-21多肽”包括缀合至如PEG的聚合物的多肽,且可任选地包含半胱氨酸、赖氨酸或其他残基的一个或多个其他衍生化。另外,修饰的FGF-21多肽可包含接头或聚合物,其中所述接头或聚合物所结合的氨基酸可为本发明的非天然氨基酸,或可利用本领域已知的技术结合至天然编码的氨基酸,如与赖氨酸或半胱氨酸偶联。

[0147] 术语“修饰的FGF-21多肽”还包括糖基化的修饰的FGF-21,例如但不限于在任何氨基酸位置糖基化的多肽、多肽的N-连接或O-连接糖基化形式。含有单一核苷酸变化的变体也视为FGF-21多肽的生物活性变体。此外,还包括剪接变体。术语“修饰的FGF-21多肽”还包括任何一个或多个未修饰的或修饰的FGF-21多肽或任何其他多肽、蛋白质、糖类、聚合物、小分子、接头、配体或任何类型的其他生物活性分子的FGF-21多肽异二聚体、同二聚体、异

多聚体或同多聚体(通过化学手段连接或表达为融合蛋白),以及含有例如特定缺失或其他修饰然而保持生物活性的多肽类似物。

[0148] 除非另外说明(即当说明比较是基于SEQ ID NO:2、3、4、5、6、7或其他FGF-21序列时),否则所有提及本文所述的未经修饰或经修饰的FGF-21中的氨基酸位置均基于SEQ ID NO:1中的对应位置。例如,SEQ ID NO:1位置77处的氨基酸是精氨酸且对应精氨酸位于SEQ ID NO:2位置87处。本领域技术人员会了解与SEQ ID NO:1中的位置对应的氨基酸位置可在如SEQ ID NO:2、3、4、5、6和7的任何其他FGF-21分子中容易地加以鉴定。本领域技术人员会了解,与SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7或任何其他FGF-21序列中的位置对应的氨基酸位置可在如FGF-21融合物、变体、片段等的任何其他FGF-21分子中容易地加以鉴定。例如,可使用如BLAST的序列比对程序来比对并鉴定蛋白质中对应于SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7或其他FGF-21序列中的位置的具体位置。本文中关于SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7或其他FGF-21序列所述的氨基酸的取代、缺失或添加也是指在本文所述或本领域中已知的FGF-21融合物、变体、片段等中的对应位置中的取代、缺失或添加并且明确地涵盖于本发明内。

[0149] 术语“修饰的FGF-21多肽”或“修饰的FGF-21”涵盖包含一个或多个氨基酸取代、插入或缺失的FGF-21多肽。例如,本发明的修饰的FGF-21多肽可包含一个或多个天然氨基酸的修饰,任选地连同一个或多个非天然氨基酸修饰。FGF-21多肽(包括本文所述的那些和其他的)中的各种氨基酸位置中的例示性取代、插入或缺失包括但不限于调节药学稳定性的取代,其调节FGF-21多肽的生物活性的一项或多项,例如但不限于增加激动剂活性、增加多肽的溶解度、降低蛋白酶易感性、降低脱酰胺化、使多肽转化为拮抗剂、降低免疫原性或毒性、有助于纯化或工艺性等且涵盖于术语“修饰的FGF-21多肽”中。

[0150] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽进一步包含调节修饰的FGF-21多肽的生物活性的额外插入、取代或缺失。例如,添加、取代或缺失可以调节修饰的FGF-21的一种或多种特性或活性。例如,添加、取代或缺失可调节FGF-21多肽受体的亲和力。调节循环半衰期,调节治疗性半衰期,调节多肽的稳定性,调节由蛋白酶产生的裂解,调节剂量,调节释放或生物利用度,有助于纯化,降低脱酰胺化,改进储存期限或改进或改变具体施用途径。类似地,修饰的FGF-21多肽可包含蛋白酶裂解序列、反应性基团、抗体结合域(包括但不限于FLAG或多聚His)或改进多肽的检测(包括但不限于GFP)、纯化或其他特性的其他基于亲和力的序列(包括但不限于FLAG、多聚His、GST等)或连接分子(包括但不限于生物素)。

[0151] 术语“修饰的FGF-21多肽”还涵盖经由如Fc域的融合配偶体形成或得以连接的同二聚体、异二聚体、同多聚体及异多聚体,包括但不限于经由非天然编码的氨基酸侧链直接连接,连接至相同或不同的非天然编码的氨基酸侧链、连接至天然编码的氨基酸侧链或经由接头间接连接的那些。例示性接头包括但不限于小有机化合物、多种长度的水溶性聚合物(如聚(乙二醇)或聚右旋糖酐)或各种长度的多肽。

[0152] “非天然编码的氨基酸”是指并非20种常见氨基酸或吡咯赖氨酸或硒代半胱氨酸之一的氨基酸。可与术语“非天然编码的氨基酸”同义使用的其他术语为“非天然氨基酸(non-natural amino acid/unnatural amino acid)”、“非天然存在的氨基酸”及其各种加连字符及不加连字符的形式。术语“非天然编码的氨基酸”还包括但不限于通过天然编码的氨基酸(包括但不限于20种常见氨基酸或吡咯赖氨酸及硒代半胱氨酸)的修饰(例如翻译后修饰)产生但本身并不会通过翻译复合体天然并入生长的多肽链中的氨基酸。此类非天然

编码的氨基酸的实例包括但不限于N-乙酰基葡糖氨基-L-丝氨酸、N-乙酰基葡糖氨基-L-苏氨酸和O-磷酸酪氨酸。

[0153] “氨基端修饰基团”是指可与多肽的氨基端连接的任何分子。类似地,“羧基端修饰基团”是指可与多肽的羧基端连接的任何分子。末端修饰基团包括但不限于各种水溶性聚合物、肽或蛋白质,如血清白蛋白、Fc域、免疫球蛋白恒定区、非结构化多肽、Adnectin或其片段,或增加肽的血清(体内)半衰期的其他部分。

[0154] 本领域及本文中使用的术语“官能团”、“活性部分”、“活化基团”、“离去基团”、“反应性位点”、“化学反应性基团”和“化学反应性部分”是指分子的不同的可定义部分或单元。此类术语在某种程度上与化学领域中的含义同义,并且在本文中用以表示分子中执行一些功能或活性并与其他分子反应的部分。

[0155] 术语“连接基/键(linkage)”或“接头”在本文中用以指通常由化学反应形成且通常为共价连接的基团或键。水解稳定连接基意指,该连接基在水中基本稳定,且在适用的pH值处,包括但不限于在生理条件下,可在一段较长时间内(可能甚至无限期地)不与水反应。水解不稳定或可降解连接基意指该连接基可在水或水溶液(包括例如血液)中降解。酶促不稳定或可降解连接基意指该连接基可由一种或多种酶降解。如本领域中所理解的,PEG及相关聚合物可包括在聚合物主链中或在聚合物主链与聚合分子的一个或多个末端官能团之间的连接基团中的可降解连接基。例如,由PEG羧酸或活化PEG羧酸与生物活性剂上的醇基团的反应形成的酯键一般在生理条件下水解以释放药剂。其他水解可降解连接基包括但不限于:碳酸酯键;由胺与醛反应产生的亚胺键;通过醇与磷酸酯基反应形成的磷酸酯键;作为酰肼与醛的反应产物的腙键;作为醛与醇的反应产物的缩醛键;作为甲酸与醇的反应产物的原酸酯键;通过包括但不限于聚合物(如PEG)末端的氨基与肽的羧基形成的肽键;和由包括但不限于聚合物末端的氨基磷酸酯基与寡核苷酸的5’羟基形成的寡核苷酸键。

[0156] 术语“生物活性分子”、“生物活性部分”或“生物活性剂”在本文中使用时意指可影响与活生物体相关的生物系统、通路、分子或相互作用的任何物理或生物化学特性的任何物质。具体而言,如本文所用,生物活性分子包括但不限于意欲用于诊断、治愈、缓解、治疗或预防人或其他动物的疾病,或以其他方式增强人或动物的身体或精神良好状态的任何物质。生物活性分子的实例包括但不限于自病毒、细菌、昆虫、动物或任何其他细胞或细胞类型、脂质体、微粒及微胶束获得或衍生的肽、蛋白质、酶、小分子药物、糖类、无机原子或分子、染料、脂质、核苷、放射性核素、寡核苷酸、类毒素、毒素、多糖、核酸、肽、多肽、蛋白质及其部分。

[0157] 术语“取代基”包括但不限于“非干扰取代基”。“非干扰取代基”是产生稳定化合物的那些基团。适合的非干扰取代基或基团包括但不限于卤素、C_1-C_{10}烷基、C_2-C_{10}烯基、C_2-C_{10}炔基、C_1-C_{10}烷氧基、C_1-C_{12}芳烷基、C_1-C_{12}烷芳基、C_3-C_{12}环烷基、C_3-C_{12}环烯基、苯基、取代的苯基、甲苯酰基、二甲苯基、联苯基、C_2-C_{12}烷氧基烷基、C_2-C_{12}烷氧基芳基、C_7-C_{12}芳氧基烷基、C_7-C_{12}氧基芳基、C_1-C_6烷基亚磺酰基、C_1-C_{10}烷基磺酰基、--$(CH_2)_m$--O--(C_1-C_{10}烷基),其中m为1至8、芳基、取代的芳基、取代的烷氧基、氟烷基、杂环基、取代的杂环基、硝基烷基、--NO_2、--CN、--NRC(O)--(C_1-C_{10}烷基)、--C(O)--(C_1-C_{10}烷基)、C_2-C_{10}烷基硫代烷基、--C(O)O--(C_1-C_{10}烷基)、--OH、--SO_2、=S、--COOH、--NR_2、羰基、--C(O)-(C_1-C_{10}烷基)-CF3、--C(O)—CF3、-C(O)NR2、--(C_1-C_{10}芳基)-S--(C_6-C_{10}芳基)、--C(O)--(C_1-C_{10}芳基)、--$(CH_2)_m$--

O--(--(CH_2)$_m$--O--(C_1-C_{10}烷基),其中各m为1至8、--C(O)NR_2、--C(S)NR_2、--SO_2NR_2、--NRC(O)NR_2、--NRC(S)NR_2、其盐等等。如本文所用的各R为H、烷基或取代的烷基、芳基或取代的芳基、芳烷基或烷芳基。

[0158] 如本文所用,术语“水溶性聚合物”是指在水性溶剂中可溶的任何聚合物。水溶性聚合物与修饰的FGF-21多肽的键可产生如下改变,包括但不限于相对于未经修饰的形式增加或调节的血清(体内)半衰期或增加或调节的治疗半衰期、调节的免疫原性或毒性、调节的物理缔合特征(如聚集及多聚体形成)、改变的受体结合、改变的与一个或多个结合配偶体的结合及改变的受体二聚化或多聚化。水溶性聚合物可具有或可不具有其自身生物活性,且可用作连接经修饰的FGF-21与其他物质的接头,所述其他物质包括但不限于一种或多种未修饰的或修饰的FGF-21多肽或一种或多种生物活性分子。适合的聚合物包括但不限于聚乙二醇、聚乙二醇丙醛、其单C_1-C_{10}烷氧基或芳氧基衍生物(描述于美国专利No.5,252,714中,其通过提述并入本文)、单甲氧基-聚乙二醇、离散PEG、聚乙烯吡咯啶酮、聚乙烯醇、聚氨基酸、二乙烯醚顺丁烯二酸酐、N-(2-羟丙基)-甲基丙烯酰胺、右旋糖、右旋糖衍生物(包括硫酸右旋糖)、聚丙二醇、聚氧化丙烯/氧化乙烯共聚物、聚氧乙基化多元醇、肝素、肝素片段、多糖、寡糖、聚糖、纤维素及纤维素衍生物(包括但不限于甲基纤维素和羧甲基纤维素)、淀粉及淀粉衍生物、多肽、聚烷撑二醇(polyalkylene glycol)及其衍生物、聚烷撑二醇及其衍生物的共聚物、聚乙烯乙醚及α-β-聚[(2-羟乙基)-DL-天冬酰胺等,或其混合物。此类水溶性聚合物的实例包括但不限于聚乙二醇和血清白蛋白。

[0159] 如本文所用,术语“聚烷撑二醇”(PEG)或“聚(烯烃二醇)”是指聚乙二醇(聚(乙二醇))、聚丙二醇、聚丁二醇及其衍生物。术语“聚烷撑二醇”涵盖直链与支链聚合物及0.1kDa至100kDa的平均分子量。其他例示性实施例列于例如商业供货商目录中,如Shearwater公司的目录“Polyethylene Glycol and Derivatives for Biomedical Applications”(2001)。

[0160] 如本文所用,术语“经调节的血清半衰期”或“经调节的体内半衰期”及类似术语是指经修饰的FGF-21相对于如其非修饰形式的比较剂的循环半衰期的正或负变化。血清半衰期通过如下方法测量:在施用经修饰的FGF-21后的不同时间点处获取血液样品,且确定各样品中该分子的浓度。血清浓度与时间的相关性允许计算血清半衰期。增加的血清(体内)半衰期理想地可为至少约两倍,但较小增加可为有用的,例如在实现令人满意的给药方案或避免毒性作用的情况下。在一些实施方案中,增加可为至少约三倍、至少约五倍或至少约十倍。

[0161] 如本文所用,术语“经调节的治疗性半衰期”意指治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽相对于如其非修饰形式或野生型FGF-21的比较剂的血清或体内半衰期的正或负变化。治疗性半衰期通过在施用后的不同时间点处测量分子的药代动力学和/或药效学特性来测量。增加的治疗半衰期理想地实现特别有益的给药方案,特别有益的总剂量,或避免不良作用。在一些实施方案中,增加的治疗半衰期由以下产生:增加的效力、修饰的分子与其靶物的增加或降低的结合、分子通过酶(如蛋白酶)的增加或降低的分解、或未修饰的分子的作用机制或另一参数的增加或降低或分子的受体介导的清除的增加或降低。

[0162] 术语“分离的”在用于核酸或蛋白质时表示核酸或蛋白质不含其在天然状态下相关的细胞组分中的至少一些,或所述核酸或蛋白质已浓缩至大于其在体内或体外生产的浓

度的水平。其可呈均质状态。分离的物质可呈干燥或半干燥状态;或呈溶液形式,包括但不限于水溶液。其可为包含额外的药学上可接受的载剂和/或赋形剂的药物组合物的组分。纯度及均质性通常使用如聚丙烯酰胺凝胶电泳或高效液相色谱的分析化学技术来确定。在制备物中占主导种类的蛋白质是基本上纯的。具体地,分离的基因分离自位于该基因侧翼的开放阅读框且编码除目的基因之外的蛋白。术语"纯化"表示核酸或蛋白质在电泳凝胶中实质上产生一个条带。具体地,其可意指核酸或蛋白质是至少85%纯的、至少90%纯的、至少95%纯的、至少99%纯的或大于99%纯的。

[0163] 术语"核酸"是指脱氧核糖核苷酸、脱氧核糖核苷、核糖核苷或核糖核苷酸及其单或双链形式的聚合物。除有具体限定外,该术语涵盖含有天然核苷酸的已知类似物的核酸,所述已知类似物具有与参考核酸类似的结合特性且以与天然存在的核苷酸类似的方式代谢。除有具体限定外,该术语也指寡核苷酸类似物,包括PNA(肽核酸)、用于反义技术的DNA的类似物(硫代磷酸酯(phosphorothioates)、磷酰氨酸(phosphoroamidates)及其类似物)。除非另有指明,否则具体核酸序列还隐含地涵盖其经保守修饰的变体(包括但不限于简并密码子取代)及互补序列以及明确指明的序列。

[0164] 术语"多肽"、"肽"及"蛋白"在本文中可互换使用,且是指氨基酸残基的聚合物。即针对多肽的描述同样适用于肽的描述和蛋白的描述,反之亦然。所述术语适用于天然存在的氨基酸聚合物以及其中一个或多个氨基酸残基是非天然编码的氨基酸的氨基酸聚合物。如本文所用,所述术语涵盖任何长度的氨基酸链,包括全长蛋白,其中氨基酸残基通过共价肽键连接。

[0165] "保守修饰的变体"是指含有保守取代的氨基酸序列。例示性保守修饰的变体包括核酸、肽、多肽或蛋白序列的取代、缺失或插入,其会改变、添加或删除多肽序列或编码的多肽序列中的单个氨基酸或小百分比的氨基酸,例如多至1、2、3、4或5个氨基酸,或多肽序列或编码的多肽序列的氨基酸的至多0.5%、1%、1.5%、2%、2.5%或3.5%,其任选地可为或可包括用化学上类似的氨基酸的氨基酸取代。提供功能上相似的氨基酸的保守取代表是本领域普通技术人员已知的。此类保守修饰的变体是附加的且不排除本发明的修饰的FGF-21多肽的多态变体、种间同系物和等位基因。

[0166] 提供功能上类似的氨基酸的保守取代表是本领域普通技术人员已知的。如下八个组各自含有彼此互为保守取代的氨基酸:

[0167] 1)丙氨酸(A),甘氨酸(G);

[0168] 2)天冬氨酸(D)、谷氨酸(E);

[0169] 3)天冬酰胺(N),谷氨酰胺(Q);

[0170] 4)精氨酸(R),赖氨酸(K);

[0171] 5)异亮氨酸(I),亮氨酸(L),甲硫氨酸(M),缬氨酸(V);

[0172] 6)苯丙氨酸(F),酪氨酸(Y),色氨酸(W);

[0173] 7)丝氨酸(S),苏氨酸(T);和

[0174] 8)半胱氨酸(C),甲硫氨酸(M)

[0175] (参见例如Creighton,Proteins:Structures and Molecular Properties(W H Freeman&Co.;第2版(1993年12月)。

[0176] 在两个或更多个核酸或多肽序列的情况下,术语"相同"或百分比"同一性"是指相

同的两个或更多个序列或亚序列。当在比较窗或标示区上比较和比对用于最大对应时,如使用如下序列比较算法(或本领域普通技术人员可获得的其他算法)之一或通过手动比对及目测所测量的,若序列具有一定百分比的相同氨基酸残基或核苷酸(即在指定区域上约60%同一性,约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%同一性),则所述序列"基本上相同"。同一性可存在于长度为至少约50个氨基酸或核苷酸的区域或比较窗上,或长度为75-100个氨基酸或核苷酸的区域上,或在未指定的情况下跨越整个多核苷酸或多肽序列。如本文所用的,"比较窗"包括指选自下组的任一数目的连续位置的区段:20至600、通常约50至约200,更通常约100至约150,其中在两个序列为最佳比对之后,可将一个序列与相同数目的连续位置的参考序列相比。可适用于确定百分比序列同一性和序列相似性的算法的实例为BLAST及BLAST 2.0算法,其分别描述于Altschul等(1997)Nuc.Acids Res.25:3389-3402和Altschul等(1990)J.Mol.Biol.215:403-410中,以及Smith-Waterman(Smith和Waterman,J Mol Biol.1981Mar 25;147(1):195-7)或Needleman-Wunsch(Needleman和Wunsch,J Mol Biol.1970Mar;48(3):443-53)算法,其可用默认参数运行,例如如各自公开中描述的那样。

[0177] 如本文所用的术语"受试者"是指动物,在一些实施方案中为哺乳动物,且在其他实施方案中为人,其是治疗、观察或实验的对象。动物可为宠物(例如狗、猫等)、农场动物(例如牛、羊、猪、马等)或实验室动物(例如大鼠、小鼠、豚鼠等)。

[0178] 如本文所用,术语"有效量"是指可在一定程度上减轻正在治疗的疾病、病况或病症的一个或多个症状的施用的化合物(例如本文所述的修饰的FGF-21多肽)的量。可施用含有本文所述的修饰的FGF-21多肽的组合物以进行预防性、增强和/或治疗性处理。

[0179] 术语"增强(enhance或enhancing)"意指增加或延长所需效果的效力或持续时间。因此,关于增强治疗剂的效果,术语"增强"是指增加或延长其他治疗剂对系统的效果的效力或持续时间的能力。

[0180] 如本文所用,术语"修饰的"是指给定多肽的任何变化,如多肽的长度、多肽的氨基酸序列、化学结构、共翻译修饰或翻译后修饰的变化。形式"(修饰的)"术语意指所论述的多肽是任选地经修饰的,即论述的多肽可为修饰的或未修饰的。

[0181] 术语"翻译后修饰的"是指天然或非天然氨基酸在已并入至多肽链中之后发生的该氨基酸的任何修饰。该术语涵盖例如共翻译体内修饰、共翻译体外修饰(如在无细胞翻译系统中)、翻译后体内修饰及翻译后体外修饰。

[0182] 在预防性应用中,向易患特定疾病、病症或病况或是处于特定疾病、病症或病况风险的患者施用含有修饰的FGF-21多肽的组合物。此类量定义为"预防有效量"。

[0183] 在治疗性应用中,向已患有疾病、病况或病症的患者施用足以治愈或至少部分遏制或缓解疾病、病症或病况的症状的量的包含经修饰的非天然氨基酸多肽的组合物。此类量定义为"治疗有效量",且可根据疾病、病症或病况的严重程度和病程、先前治疗、患者的健康状况及对药物的响应和治疗医师的判断而定。认为技术人员能够通过常规实验(例如剂量递增临床试验)确定此类治疗有效量。

[0184] 术语"治疗"用以指预防性和/或治疗性处理。

[0185] 本文中呈现的非天然编码的氨基酸多肽可包括同位素标记的化合物,其中一个或多个原子由原子质量或质量数不同于自然界中通常发现的原子质量或质量数的原子置换。

[0186] 将包括但不限于非对映异构体、对映异构体及其混合物的所有异构体视为本文所述的组合物的一部分。在额外或进一步的实施方案中,非天然编码的氨基酸多肽在施用于所需生物体时发生代谢以产生代谢物,然后用于产生所需效果,包括所需治疗性效果。在进一步的或额外实施方案中,是非天然编码的氨基酸多肽的活性代谢物。

[0187] I.综述

[0188] 本发明提供包含内部缺失且任选地包含至少一个非天然氨基酸的修饰的FGF-21分子。证明包含内部缺失的修饰的FGF-21多肽的例示性实施方案显示出至少一个有利特性,包括但不限于增加的热稳定性、改进的溶解度、降低的脱氨基作用、改进的工艺性、全长生物活性形式的改进的体内半衰期,同时保持生物活性的水平与无内部缺失的FGF-21多肽相当。

[0189] 在含有缺失区且任选地经肽替换的修饰的FGF-21多肽中脱酰胺化得以减缓且储存期限和纯度得以改进(参见图1)。例示性的修饰的序列显示出减缓可在分子存储期间发生的脱酰胺化作用。除脱酰胺化减缓以外,该修饰还增加呈溶液状态的蛋白质的热稳定性和/或溶解度,且相对于缺乏此缺失的野生型FGF-21或FGF-21多肽使蛋白质聚集倾向进一步降至最低。降低的脱酰胺化、增加的热稳定性、增加的溶解度和/或减少聚集指示优良的配制特征,如较长储存期限及较大纯度,以及较大浓度的配制物。另外,脱酰胺化的倾向减缓允许有较大范围的配制选择;否则,需要选择配制条件以降低脱酰胺化,其会潜在产生其他不合需要的配制特征。此外,不可预测且出人意料的是,包含5至19个连续氨基酸的内部缺失及置换肽的修饰的FGF-21多肽可保留FGF-21的生物功能且具有降低的脱酰胺化、增加的热稳定性、增加的溶解度和减少聚集的至少一项。

[0190] 进一步的例示性修饰会减缓自蛋白的体内蛋白水解剪切十个C末端氨基酸。此修饰延长完整、活性分子的血液半衰期,这导致降低总剂量和更低的给药频率。减缓蛋白水解剪切的例示性修饰是点突变,G170E,但还可利用其他修饰。

[0191] 在一些实施方案中,本发明提供修饰的FGF-21多肽,其包含具有选自SEQ ID NO:1-7的氨基酸序列的多肽,只是其中所述氨基酸序列可包含:(i)2至19个氨基酸(如5至19个氨基酸)的内部缺失,其中所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸116至134对应的区域内,其中所述内部缺失经长度为0至12个氨基酸的置换肽置换;及(ii)9或少于9个额外氨基酸取代、缺失和/或插入。

[0192] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含多肽,所述多肽具有含有至少一个非天然编码的氨基酸的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1的氨基酸72、77、86、87、91、108、110、126、131或146对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1的氨基酸77、91、108或131对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸108对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸72对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸77对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸86对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸87对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基

酸91对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸110对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸126对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸131对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸146对应的位置。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸是苯丙氨酸衍生物。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸可为经对位取代、经邻位取代或经间位取代的苯丙氨酸衍生物。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸是对-乙酰基-L-苯丙氨酸。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸是对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其并入与SEQ ID NO:1中的氨基酸108对应的位置处。

[0193] 在一些实施方案中,本发明提供修饰的FGF-21多肽,其包含具有选自SEQ ID NO:1-7的氨基酸序列的多肽,只是其中所述氨基酸序列可包含:(i)2至19个氨基酸(如5至19个氨基酸)的内部缺失,其中所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸116至134对应的区域内,其中所述内部缺失经长度为0至12个氨基酸的置换肽置换;及(ii)9个或少于9个额外氨基酸取代、缺失和/或插入;(iii)与SEQ ID NO:1的氨基酸108对应的位置处的非天然编码的氨基酸,其可包含经对位取代、经邻位取代或经间位取代的苯丙氨酸衍生物,如对-乙酰基-L-苯丙氨酸。

[0194] 在一些实施方案中,所述修饰的FGF-21多肽可包含与SEQ ID NO:1的氨基酸170对应的位置处用谷氨酸对甘氨酸的取代。

[0195] 在一些实施方案中,所述内部缺失可包含与SEQ ID NO:1的氨基酸119-130对应的区域或由其组成。在一些实施方案中,所述修饰的FGF-21多肽可连接至聚合物、水溶性聚合物或聚(乙二醇),如平均分子量是约30kDa的聚(乙二醇)。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列G、GG、SG、GSG、GGH或SGG。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列GSG。

[0196] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有18、17、16、15、14、13、12、11、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1个或更少的额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有的8个或更少个额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有的7个或更少个额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有的6个或更少个额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有的5个或更少个额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有的4个或更少个额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有的3个或更少个额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有的2个或更少个额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有的1个或更少个额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有与SEQ ID NO:1的氨基酸G170对

应的氨基酸的取代或缺失的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有在与SEQ ID NO:1的氨基酸170对应的位置用谷氨酸取代甘氨酸的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可不含额外氨基酸取代、缺失和/或插入的氨基酸序列。

[0197] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有氨基酸序列,所述氨基酸序列含有4至19个、4至18个、4至17个、4至16个、4至15个、4至14个、4至13个、4至12个、4至11个、4至10个、4至9个、4至8个、4至7个或4至6个氨基酸的内部缺失。在一些实施方案中,所述内部缺失可为4至14个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为4至12个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为4至10个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为4至8个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为4至6个氨基酸。

[0198] 在一些实施方案中,所述内部缺失可为5至19个、5至18个、5至17个、5至16个、5至15个、5至14个、5至13个、5至12个、5至11个、5至10个、5至9个、5至8个、5至7个或5至6个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为5至14个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为5至12个氨基酸。

[0199] 在一些实施方案中,所述内部缺失可为6至19个、6至18个、6至17个、6至16个、6至15个、6至14个、6至13个、6至12个、6至11个、6至10个、6至9个、6至8个或6至7个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为6至14个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为6至12个氨基酸。

[0200] 在一些实施方案中,所述内部缺失可为7至19个、7至18个、7至17个、7至16个、7至15个、7至14个、7至13个、7至12个、7至11个、7至10个、7至9个或7至8个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为7至14个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为7至12个氨基酸。

[0201] 在一些实施方案中,所述内部缺失可为8至19个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为8至14个氨基酸。在一些实施方案中,所述内部缺失可为8至12个氨基酸。

[0202] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含多肽,所述多肽具有可含有12个氨基酸的内部缺失的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含多肽,所述多肽具有可含有13个氨基酸的内部缺失的氨基酸序列。

[0203] 在一些实施方案中,本文所述的内部缺失可包含与SEQ ID NO:1的氨基酸121对应的位置。

[0204] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含内部缺失的氨基酸序列,其中:

[0205] i)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸116至氨基酸121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0206] ii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸117至氨基酸121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0207] iii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸118至氨基酸121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0208] iv)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸119至氨基酸121、122、123、124、125、

126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0209] v)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸120至氨基酸121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;或

[0210] vi)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸121至氨基酸122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成。

[0211] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有内部缺失的氨基酸序列,其中:

[0212] i)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸122至氨基酸126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0213] ii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸123至氨基酸127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0214] iii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸124至氨基酸128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0215] iv)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸125至氨基酸129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0216] v)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸126至氨基酸130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0217] vi)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸127至氨基酸131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0218] vii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸128至氨基酸132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0219] viii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸129至氨基酸133或134对应的区域内或由其组成;或

[0220] ix)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸130至氨基酸134对应的区域内或由其组成。

[0221] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有内部缺失的氨基酸序列,其中:

[0222] i)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸116至氨基酸117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0223] ii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸117至氨基酸118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0224] iii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸118至氨基酸119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0225] iv)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸119至氨基酸120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0226] v)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸120至氨基酸121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0227] vi)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸121至氨基酸122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0228] vii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸122至氨基酸123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0229] viii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸123至氨基酸124、125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0230] ix)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸124至氨基酸125、126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0231] x)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸125至氨基酸126、127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0232] xi)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸126至氨基酸127、128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0233] xii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸127至氨基酸128、129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0234] xiii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸128至氨基酸129、130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0235] xiv)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸129至氨基酸130、131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0236] xv)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸130至氨基酸131、132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0237] xvi)该内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸131至氨基酸132、133或134对应的区域内或由其组成;

[0238] xvii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸132至氨基酸133或134对应的区域内或由其组成;或

[0239] xviii)所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸133至氨基酸134对应的区域内或由其组成。

[0240] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有内部缺失的氨基酸序列,其中所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸119-130对应的区域内。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有内部缺失的氨基酸序列,其中所述内部缺失包含与SEQ ID NO:1的氨基酸119-130对应的区域或由其组成。

[0241] 在一些实施方案中,本发明提供修饰的FGF-21多肽,其包含具有选自SEQ ID NO:1-7的氨基酸序列的多肽,只是其中所述氨基酸序列可包含:(i)与SEQ ID NO:1的氨基酸119-130对应的区域的内部缺失,其中所述内部缺失经长度为0至12个氨基酸的置换肽置换;及(ii)9个或少于9个额外氨基酸取代、缺失和/或插入;和(iii)与SEQ ID NO:1的氨基酸108对应的位置的非天然编码的氨基酸,其可包含经对位取代、经邻位取代或经间位取代的苯丙氨酸衍生物,如对-乙酰基-L-苯丙氨酸。所述修饰的FGF-21多肽可包含在与SEQ ID NO:1的氨基酸170对应的位置处用谷氨酸对甘氨酸的取代。所述修饰的FGF-21多肽可连接至聚合物、水溶性聚合物或聚(乙二醇),如平均分子量为约30kDa的聚(乙二醇)。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列G、GG、SG、GSG、GGH或SGG。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列GSG。

[0242] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可包含置换多肽的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述置换肽的长度为1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个氨基酸。在一些实施方案中,所述置换肽的长度为2-8个氨基酸。在一些实施方案中,所述置换肽的长度为2-5个氨基酸。在一些实施方案中,所述置换肽的长度为3个氨基酸。在一些实施方案中,所述置换肽包含丝氨酸、组氨酸和/或甘氨酸残基。在一些实施方案中,所述置换肽包含丝氨酸和/或甘氨酸残基。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列G、GG、SG、GSG、GGH或SGG。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列GSG。

[0243] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可包含与SEQ ID NO:1的氨基酸119-130对应的区域内的内部缺失及具有序列GSG的置换肽的氨基酸序列。

[0244] 在一些实施方案中,本发明提供修饰的FGF-21多肽,其包含具有选自SEQ ID NO:1-7的氨基酸序列的多肽,只是其中所述氨基酸序列可包含:(i)2至19个氨基酸(如5至19个氨基酸)的内部缺失,其中所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸116至134对应的区域内,其中所述内部缺失经具有序列G、GG、SG、GSG、GGH或SGG的置换肽置换;(ii)9个或少于9个额外氨基酸取代、缺失和/或插入;(iii)与SEQ ID NO:1的氨基酸108对应的位置的非天然编码的氨基酸,其可包含经对位取代、经邻位取代或经间位取代的苯丙氨酸衍生物,如对-乙酰基-L-苯丙氨酸。所述修饰的FGF-21多肽可包含在与SEQ ID NO:1的氨基酸170对应的位置用谷氨酸取代甘氨酸。所述内部缺失可包含与SEQ ID NO:1的氨基酸119-130对应的区域或由其组成。所述修饰的FGF-21多肽可连接至聚合物、水溶性聚合物或聚(乙二醇),如平均分子量是约30kDa的聚(乙二醇)。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列GSG。

[0245] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有包含与SEQ ID NO:1的氨基酸119-130对应的区域的内部缺失、具有序列GSG的置换肽、在与SEQ ID NO:1的氨基酸170对应的位置用谷氨酸取代甘氨酸、和任选的与SEQ ID NO:1的氨基酸108对应的位置处的非天然编码的氨基酸的氨基酸序列,所述非天然编码的氨基酸可包含经对位取代、经邻位取代或经间位取代的苯丙氨酸衍生物,如对-乙酰基-L-苯丙氨酸。

[0246] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有氨基酸序列,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:202的多肽具有至少90%、95%、96%、97%、98%、99%同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:202的多肽具有至少95%同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:202的多肽具有至少97%同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:202的多肽具有至少98%同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:202的多肽具有至少99%同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可包含有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:202的多肽或由其组成。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可包含SEQ ID NO:202的多肽或由其组成。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可包含无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:202的多肽或由其组成。

[0247] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有氨基酸序列,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:102的多肽具有

至少90％、95％、96％、97％、98％、99％同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:102的多肽具有至少95％同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:102的多肽具有至少97％同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:102的多肽具有至少98％同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可与有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:102的多肽具有至少99％同一性。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可包含有或无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:102的多肽或由其组成。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可包含SEQ ID NO:102的多肽或由其组成。在一些实施方案中,所述氨基酸序列可包含无N末端甲硫氨酸的SEQ ID NO:102的多肽或由其组成。

[0248] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可进一步包含融合配偶体。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可在所述氨基酸序列与融合配偶体之间包含长度为0-50个氨基酸的连接肽。在一些实施方案中,连接肽可具有选自SEQ ID NO:74-100、301和350-383的氨基酸序列。在一些实施方案中,连接肽可具有氨基酸序列GGGGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:360)。

[0249] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可进一步包含连接所述氨基酸序列与所述融合配偶体的连接肽。在一些实施方案中,连接肽的长度可为0至100个、2至80个、2至60个、2至50个、2至40个、2至30个、2至20个、2至10个、2至8个、2至6个或2至4个氨基酸。在一些实施方案中,连接肽可包含选自SEQ ID NO:74-100、301和350-383的氨基酸序列或由其组成。

[0250] 在一些实施方案中,连接肽可包含氨基酸序列GGGGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:360)或由其组成。

[0251] 在一些实施方案中,融合配偶体选自血清白蛋白、Fc域、免疫球蛋白恒定区、非结构化多肽和Adnectin及其片段。在一些实施方案中,融合配偶体包含免疫球蛋白恒定区或修饰的免疫球蛋白恒定区。在一些实施方案中,融合配偶体可包含非结构化多肽,其中所述非结构化多肽包括XTEN或PAS多肽。在一些实施方案中,PAS多肽可具有选自SEQ ID NO:310-316的氨基酸序列或与其至少70％、75％、80％、85％、90％或95％相同的氨基酸序列。

[0252] 在一些实施方案中,融合配偶体包含Fc域或其片段。在一些实施方案中,Fc域可具有与选自SEQ ID NO:302和323-335的氨基酸序列至少70％、75％、80％、85％、90％、95％、96％、97％、98％或99％相同的氨基酸序列,或其片段,如选自SEQ ID NO:303-309的多肽。在一些实施方案中,融合配偶体可包含具有选自SEQ ID NO:302和323-335的氨基酸序列的Fc域或Fc片段。在一些实施方案中,Fc域可具有与选自SEQ ID NO:302和323-335的氨基酸序列至少95％相同的氨基酸序列或其片段。在一些实施方案中,Fc域可具有与SEQ ID NO:302至少90％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,Fc域可具有与SEQ ID NO:302至少95％相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,Fc域可包含氨基酸序列SEQ ID NO:302。

[0253] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含与选自SEQ ID NO:475-487的多肽至少90％、95％、97％、98％、99％或100％相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含与SEQ ID NO:475至少90％相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含与SEQ ID NO:475至少95％相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含与SEQ ID NO:475至少96％相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含与SEQ ID NO:475至少97％相同的多肽或由其组成。在一

些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含与SEQ ID NO:475至少98%相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含与SEQ ID NO:475至少99%相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含SEQ ID NO:475的多肽或由其组成。

[0254] 在一些实施方案中,融合配偶体可包含Adnectin。在一些实施方案中,融合配偶体可包含白蛋白结合或PKE Adnectin。在一些实施方案中,PKE Adnectin可包含与SEQ ID NO:320至少70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的多肽。在一些实施方案中,PKE Adnectin可包含与SEQ ID NO:320至少90%相同的多肽。在一些实施方案中,PKE Adnectin可包含SEQ ID NO:320的多肽。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含与选自SEQ ID NO:401-423的多肽至少90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含与选自SEQ ID NO:401-423的多肽至少95%相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含选自SEQ ID NO:401-423的多肽或由其组成。

[0255] 在一些实施方案中,PKE Adnectin可包含与SEQ ID NO:319至少70%、80%、90%、95%、96%、97%、98%或99%相同的多肽。在一些实施方案中,PKE Adnectin可包含与SEQ ID NO:319至少90%相同的多肽。在一些实施方案中,PKE Adnectin可包含SEQ ID NO:319的多肽。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含与选自SEQ ID NO:452-474的多肽至少90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含与选自SEQ ID NO:452-474的多肽至少95%相同的多肽或由其组成。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含选自SEQ ID NO:452-474的多肽或由其组成。

[0256] 在一些实施方案中,融合配偶体包含血清白蛋白或其片段。在一些实施方案中,融合配偶体包含人血清白蛋白或其片段。在一些实施方案中,融合配偶体可包含与SEQ ID NO:321或322至少90%相同的多肽。在一些实施方案中,融合配偶体可包含SEQ ID NO:321或322的多肽。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含与选自SEQ ID NO:424-432、434-437、440-443和446-451的多肽至少90%、95%、97%、98%、99%或100%相同的多肽。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含与选自SEQ ID NO:424-432、434-437、440-443和446-451的多肽至少95%相同的多肽。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包含选自SEQ ID NO:424-432、434-437、440-443和446-451的多肽。

[0257] 在一些实施方案中,本发明提供修饰的FGF-21多肽,其包含具有选自SEQ ID NO:1-7的氨基酸序列的多肽,只是其中所述氨基酸序列可包含:(i)2至19个氨基酸(如5至19个氨基酸)的内部缺失,其中所述内部缺失在与SEQ ID NO:1的氨基酸116至134对应的区域内,其中所述内部缺失经长度为0至12个氨基酸的置换肽置换;及(ii)9个或少于9个额外氨基酸取代、缺失和/或插入;其中所述修饰的FGF-21多肽进一步包含融合配偶体。所述融合配偶体可包含Fc域或其片段。所述修饰的FGF-21多肽可包含在与SEQ ID NO:1的氨基酸170对应的位置用谷氨酸对甘氨酸的取代。所述内部缺失可包含与SEQ ID NO:1的氨基酸119-130对应的区域或由其组成。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列G、GG、SG、GSG、GGH或SGG。在一些实施方案中,所述置换肽具有序列GSG。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽在该氨基酸序列与融合配偶体之间包含连接肽,其中所述连接肽包含氨基酸序列GGGGGSGGGSGGGGS(SEQ ID NO:360)或由其组成。

[0258] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽

具有可含有非天然编码的氨基酸的氨基酸序列,所述非天然编码的氨基酸可连接至接头、聚合物、生物活性分子、肽、多肽或半衰期延长部分。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有非天然编码的氨基酸(其可连接至半衰期延长部分)的氨基酸序列。在一些实施方案中,所述半衰期延长部分包括水溶性聚合物。在一些实施方案中,所述半衰期延长部分选自聚(乙二醇)(PEG)、单甲氧基PEG(mPEG)、非结构化多肽、Adnectin、血清白蛋白、人血清白蛋白、Fc域、免疫球蛋白恒定区、前述任一项的片段、脂质、支链或无支链酰基、支链或无支链C8-C30酰基、支链或无支链烷基及支链或无支链C8-C30烷基。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有可含有非天然编码的氨基酸的氨基酸序列,所述非天然编码的氨基酸可连接至选自XTEN或PAS多肽的非结构化多肽。在一些实施方案中,所述半衰期延长部分包含聚(乙二醇)(PEG)或单甲氧基PEG(mPEG)聚合物。在一些实施方案中,所述半衰期延长部分包含支链或多臂聚(乙二醇)(PEG)或其他支链或多臂水溶性聚合物。在一些实施方案中,所述半衰期延长部分包含平均分子量为约0.1kDa至约100kDa的聚(乙二醇)(PEG)或单甲氧基PEG(mPEG)部分。在一些实施方案中,所述半衰期延长部分包含平均分子量如下的聚(乙二醇)或单甲氧基PEG(mPEG)部分:

[0259] i)约0.1kDa至约100kDa;

[0260] ii)约1kDa至50kDa;

[0261] iii)约10kDa至40kDa;

[0262] iv)约20kDa至30kDa;

[0263] v)约0.050kDa至约100kDa;或

[0264] vi)为约100kDa、95kDa、90kDa、85kDa、80kDa、75kDa、70kDa、65kDa、

[0265] 60kDa、55kDa、50kDa、45kDa、40kDa、35kDa、30kDa、25kDa、20kDa、

[0266] 15kDa、10kDa、9kDa、8kDa、7kDa、6kDa、5kDa、4kDa、3kDa、2kDa、

[0267] 1kDa、900Da、800Da、700Da、600Da、500Da、400Da、300Da、200Da

[0268] 或100Da。

[0269] 在一些实施方案中,所述半衰期延长部分包含平均分子量为约30kDa的聚(乙二醇)。在一些实施方案中,所述半衰期延长部分包含非聚(乙二醇)水溶性聚合物或寡糖。

[0270] 在一些实施方案中,本文所述的非天然编码的氨基酸可包含羰基、氨基氧基、酰肼基、肼基、氨基脲基、叠氮基或炔基。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸包含羰基部分且连接至包含氨基氧基、肼、酰肼或氨基脲部分的接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸包含经由酰胺键的连接至接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分的氨基氧基、肼、酰肼或氨基脲部分。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸包含经由叠氮部分连接至接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分的炔烃部分。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸包含叠氮部分,其连接至包含炔烃部分的接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸包含叠氮或炔烃部分,其经由酰胺键连接至接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸经由肟键连接至接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸经由肟键连

接至接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分,其中所述肟键具有由羰基与氨基氧基反应产生的结构。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸经由肟键连接至接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分,其中所述肟键具有由所述非天然编码的氨基酸中所含的羰基与所述接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分中所含的氨基氧基反应产生的结构。

[0271] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽具有具氨基酸序列SEQ ID NO:1的野生型人FGF-21多肽的至少一种生物活性。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽具有如下至少一项:与无所述内部缺失的FGF-21多肽或包含氨基酸序列SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:201的FGF-21多肽相比,或与无所述内部缺失及置换肽的相同修饰的FGF-21多肽相比,增加的热稳定性、减少的聚集、降低的体内蛋白水解、降低的脱酰胺化和增加的溶解度。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽具有如下至少一项:与无所述内部缺失的聚乙二醇化FGF-21多肽、无所述内部缺失的非聚乙二醇化FGF-21多肽、包含氨基酸序列SEQ ID NO:1的FGF-21多肽、包含氨基酸序列SEQ ID NO:201的非聚乙二醇化FGF-21多肽、聚乙二醇化SEQ ID NO:201相比或与无所述内部缺失及置换肽的相同修饰的FGF-21多肽相比,增加的热稳定性、减少的聚集、降低的体内蛋白水解、降低的脱酰胺化及增加的溶解度。

[0272] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可与无所述内部缺失的聚乙二醇化FGF-21多肽相比。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可与无所述内部缺失的非聚乙二醇化FGF-21多肽相比。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可与包含SEQ ID NO:1的氨基酸序列的FGF-21多肽相比。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可与SEQ ID NO:201相比。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可与聚乙二醇化SEQ ID NO:201相比。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可与无所述内部缺失及置换肽的相同修饰的FGF-21多肽相比。

[0273] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽与包含氨基酸序列SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:201的未修饰的FGF-21多肽或无所述内部缺失的FGF-21多肽相比表现出2℃至12℃、2℃至10℃、2℃至8℃、4℃至8℃、4℃至10℃、4℃至12℃或6℃至8℃的转变中点(熔解温度,Tm)增加。

[0274] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID NO:102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、202、205、206、210、211、212、219、220、221、222或223的多肽具有至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID NO:102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、202、205、206、210、211、212、219、220、221、222或223的多肽具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID NO:102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、202、205、206、210、211、212、219、220、221、222或223的多肽具有至少98%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID

NO:102或SEQ ID NO:202的多肽具有至少85％、90％、95％、96％、97％、98％、99％或100％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID NO:102或SEQ ID NO:202的多肽具有至少95％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID NO:102或SEQ ID NO:202的多肽具有至少98％同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:202的多肽。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:202的多肽,其中SEQ ID NO:202中的pAF可连接至聚(乙二醇)。在一些实施方案中,聚(乙二醇)的平均分子量是约30kDa。

[0275] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含具有N末端甲硫氨酸(其可在一些如大肠杆菌的系统中表达之后存在)的多肽。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含不具有N末端甲硫氨酸的多肽,例如由于加工以去除含有N末端甲硫氨酸的信号肽(例如在基于哺乳动物细胞的表达系统中)。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包括本文公开的序列或其变体的任一种但删去N末端甲硫氨酸,例如本文所述的SEQ ID NO:101-132、201-202、205-206、210-212、219-223的任一种或其变体、修饰或融合形式的任一种,其中N末端甲硫氨酸被删去或不存在。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可包括任何本文公开的序列或其变体,例如本文所述的SEQ ID NO:401-487的任一种或其变体、修饰或融合形式的任一种,其中添加有或存在有N末端甲硫氨酸。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含无N末端甲硫氨酸的具有氨基酸序列SEQ ID NO:202的多肽。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:202(任选地无N末端甲硫氨酸)的多肽,其中SEQ ID NO:202中的pAF连接至平均分子量为约30kDa的聚(乙二醇)。

[0276] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:102的多肽。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含具有无N末端甲硫氨酸的氨基酸序列SEQ ID NO:102的多肽。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含具有无N末端甲硫氨酸的氨基酸序列SEQ ID NO:102以及Fc域或其片段的多肽。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:102及Fc域或其片段的多肽。在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含SEQ ID NO:475。

[0277] 在一些实施方案中,本发明提供编码本文所述的修饰的FGF-21多肽的分离的核酸。在一些实施方案中,本文提供表达载体,其包含编码本文所述的修饰的FGF-21多肽的分离核酸。在一些实施方案中,本文提供包含表达载体的宿主细胞,所述表达载体包含编码本文所述的修饰的FGF-21多肽的分离核酸。在一些实施方案中,宿主细胞是哺乳动物细胞,如CHO或HEK。在一些实施方案中,宿主细胞是细菌,如大肠杆菌。在一些实施方案中,宿主细胞是酵母,如酿酒酵母(Saccharomyces cerevisiae)。在一些实施方案中,本发明提供一种生产修饰的FGF-21多肽的方法,包括培养本文所述的宿主细胞及分离所述修饰的FGF-21多肽。在一些实施方案中,本发明提供一种生产包含非天然编码氨基酸的修饰的FGF-21多肽的方法。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸由选择密码子编码。在一些实施方案中,该方法包括培养本文所述的宿主细胞,其中所述宿主细胞包含识别所述选择密码子且将所

述非天然编码的氨基酸引入至所述修饰的FGF-21多肽中的正交tRNA;和分离所述修饰的FGF-21多肽。

[0278] 在一些实施方案中,本发明提供一种组合物,其包含本文所述的修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂。在一些实施方案中,本发明提供一种组合物,其包含修饰的FGF-21多肽,所述修饰的FGF-21多肽包含具有氨基酸序列SEQ ID NO:202的多肽,其中SEQ ID NO:202中的pAF可连接至聚(乙二醇);和药学上可接受的载剂或赋形剂。在一些实施方案中,聚(乙二醇)可以具有约30kDa的平均分子量。

[0279] 在一些实施方案中,本发明提供一种组合物,其包含修饰的FGF-21多肽,所述修饰的FGF-21多肽具有无N末端甲硫氨酸的氨基酸序列SEQ ID NO:102,其融合至Fc域或其片段;和药学上可接受的载剂或赋形剂。在一些实施方案中,本发明提供一种组合物,其包含修饰的FGF-21多肽,所述经修饰的FGF-21包含SEQ ID NO:475;和药学上可接受的载剂或赋形剂。

[0280] 在一些实施方案中,本发明提供一种组合物,其包含本文所述的修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂以及至少一种其他活性剂。在一些实施方案中,所述至少一种其他活性剂是抗糖尿病剂、胆固醇控制剂、抗炎剂、抗肥胖剂、抗高血压药剂或抗纤维化剂。在一些实施方案中,所述至少一种其他活性剂是GLP-1激动剂或胰岛素。在一些实施方案中,所述至少一种其他活性剂为速效、短效、常效、中效或长效胰岛素、优泌乐(Humalog)、赖脯胰岛素(Lispro)、诺和乐(Novolog)、艾倍得(Apidra)、优泌林(Humulin)、门冬胰岛素(Aspart)、人胰岛素、NPH、Lente、Ultralente、兰德仕(Lantus)、甘精胰岛素(Glargine)、诺和平(Levemir)、地特胰岛素(Detemirm);艾塞那肽(exenatide)(Byetta/Bydureon)、利拉鲁肽(liraglutide)(Victoza)、利西拉来(lixisenatide)(Lyxumia)、阿必鲁肽(albiglutide)(Tanzeum)、长效释放艾塞那肽(LAR)、他司鲁肽(taspoglutide)、阿必鲁肽(albiglutide)、LY2189265(度拉糖肽(Dulaglutide));奥利司他(orlistat)(Xenical)、胰脂肪酶抑制剂、纳曲酮(naltrexone)、苯丁胺(phentermine)、托吡酯(topiramate)(Qsymia)、氯卡色林(lorcaserin)(Belviq)、纳曲酮和安非他酮(bupropion)(Contravene)、利莫那班(rimonabant)(Acomplia)、类大麻酚受体拮抗剂、西布曲明(sibutramine)(Meridia)、氯卡色林、利莫那班、普兰林肽(pramlintide)、苯丁胺、托吡酯、安非他酮或葡甘露聚糖。

[0281] 在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中调节如下至少一项的方法:葡萄糖及脂质稳态、葡萄糖摄取、GLUT 1表达和/或葡萄糖、甘油三酯、胰岛素或胰高血糖素的血清浓度,其包括向患者施用治疗有效量的本文公开的修饰的FGF-21多肽或本文公开的组合物。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中增加胰岛素敏感性、增加脂联素水平、降低血糖水平、降低胰高血糖素水平、降低甘油三酯水平、降低果糖胺水平、降低低密度胆固醇水平或降低C反应性蛋白水平的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文公开的修饰的FGF-21多肽或本文公开的组合物。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗选自如下的病况或病症的方法:肥胖、糖尿病、胰腺炎、胰岛素抗性、高胰岛素血症、葡萄糖不耐症、高血糖症、代谢综合征、葡萄糖耐量受损、葡萄糖清除不足、高血糖及普拉德-威利综合征,其包括向患者施用治疗有效量的本文公开的修饰的FGF-21多肽或本文公开的组合物。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要

的患者中治疗选自如下的胰岛素相关病况或病症的方法:A型胰岛素抗性、C型胰岛素抗性(AKA HAIR-AN综合征)、罗伯森-门登荷综合征、多诺霍氏综合征或矮怪病、雄激素过多症、多毛症或黑棘皮病,其包括向患者施用治疗有效量的本文公开的修饰的FGF-21多肽或本文公开的组合物。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗1型糖尿病或2型糖尿病的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文公开的修饰的FGF-21多肽或本文公开的组合物。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗肥胖的方法,其包括向患者施用治疗有效量的本文公开的修饰的FGF-21多肽或本文公开的组合物。

[0282] 在另一个实施方案中,本发明提供一种治疗纤维化相关疾病的方法,其包括向对其有需要的患者施用有效量的修饰的FGF-21多肽或包含如本文所述的修饰的FGF-21多肽的组合物。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可影响器官或组织,如胰脏、肺、心脏、肾脏、肝脏、眼、神经系统、骨髓、淋巴结、心内膜心肌和/或腹膜后腔。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可为肝纤维化或肝硬化前期(pre-cirrhosis)。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可选自:非酒精性脂肪性肝炎(NASH)、肝硬化、弥散性实质性肺病、囊肿性纤维化、肺纤维化、进行性大规模纤维化、特发性肺纤维化、注射性纤维化、肾纤维化、慢性肾病、糖尿病性肾病、局灶性节段性肾小球硬化、膜性肾病、IgA肾病、骨髓纤维化、心脏衰竭、代谢性心脏衰竭、心脏纤维化、白内障性纤维化、白内障、眼部结疤、胰脏纤维化、皮肤纤维化、肠纤维化、肠狭窄、心内膜心肌纤维化、心房纤维化、纵隔纤维化、克罗恩氏病、腹膜后纤维化、瘢痕疙瘩、肾源性全身纤维化、硬皮病、全身性硬化症、关节纤维化、Peyronie's综合征、杜普伊特伦氏挛缩、糖尿病神经病变、黏连性囊炎、酒精性肝病、肝性脂肪变性、病毒性肝炎、胆汁疾病、原发性血色沉着病、药物相关的肝硬化、隐源性肝硬化、威尔逊氏病及α1-抗胰蛋白酶缺乏症、间质性肺病(ILD)、人纤维化肺病、肝纤维化、黄斑变性、视网膜病、玻璃体视网膜病、心肌纤维化、格雷弗氏眼病、药物诱导的麦角中毒、心血管疾病、动脉粥样硬化/再狭窄、增生性疤痕、原发性或特发性骨髓纤维化和炎症性肠病(包括但不限于胶原性结肠炎)。在一些实施方案中,纤维化相关疾病由肺病、肺癌、药物疗法、化学疗法或放射疗法的一项或多项导致。在一些实施方案中,纤维化相关疾病由衰老、心脏病发作、中风、心肌损伤或左心室功能障碍的一项或多项导致。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可以选自肾纤维化、肾小球肾炎、慢性肾病、慢性肾衰竭和与全身性狼疮、癌症、实质障碍、毒素、代谢疾病、免疫疾病或糖尿病性肾病相关的肾炎。在一些实施方案中,纤维化相关疾病由创伤、脊椎损伤、感染、手术、缺血性损伤、心脏病发作、烧伤、环境污染物暴露、肺炎、肺结核或急性呼吸窘迫综合征的一项或多项造成。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可选自肺纤维化、间质性肺病、人纤维化肺疾病、特发性肺纤维化、肝纤维化、心脏纤维化、心肌纤维化、黄斑变性、视网膜病、玻璃体视网膜病、格雷弗氏眼病、药物诱导的麦角中毒、心血管疾病、动脉粥样硬化/再狭窄、瘢痕疙瘩及增生性疤痕、原发性或特发性骨髓纤维化、炎症性肠病、胶原性结肠炎、眼部结疤及白内障纤维化。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可选自NASH、肝纤维化和肝硬化。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可为NASH。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可选自糖尿病性肾脏疾病、慢性肾病和肾纤维化。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可选自代谢性心脏衰竭及心脏纤维化。在一些实施方案中,纤维化相关疾病可为肺纤维化。

[0283] 在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗肝纤维化或肝硬

化的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗或预防NASH的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物。

[0284] 在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中降低肝脂肪分数的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物,其中所述患者任选地处于患上NASH的风险或已诊断患有NASH。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中降低肝脏硬度、降低体脂肪百分比、降低体重、降低肝-体重比率、降低肝脏脂质含量、减小肝纤维化区域、降低空腹血糖水平、空腹甘油三酯、降低LDL胆固醇、降低ApoB、降低ApoC和/或增加HDL胆固醇的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物,其中所述患者任选地处于患上NASH的风险或已诊断患有NASH。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中提高脂联素水平的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物,其中所述患者任选地处于患上NASH的风险或已诊断患有NASH。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗一种或多种与NASH相关的症状的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物。

[0285] 本文提供在对其有需要的患者中治疗或预防NASH的方法,其包括向患者施用治疗有效量的修饰的FGF-21多肽,所述修饰的FGF-21多肽包含具有与SEQ ID NO:202至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列的多肽。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含具有与SEQ ID NO:202至少95%相同的氨基酸序列的多肽。本文还提供在对其有需要的患者中治疗或预防NASH的方法,其包括向患者施用治疗有效量的包含SEQ ID NO:202的修饰的FGF-21多肽,其中其pAF残基连接至聚(乙二醇)部分。在一些实施方案中,所述聚(乙二醇)的分子量是约0.1kDa至100kDa或约20kDa至约40kDa或是约30kDa。在一些实施方案中,所述聚(乙二醇)分子量是约30kDa。

[0286] 本文提供在对其有需要的患者中治疗或预防NASH的方法,其包括向患者施用治疗有效量的修饰的FGF-21多肽,所述修饰的FGF-21多肽包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID NO:102至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID NO:102至少95%相同的氨基酸序列。本文还提供在对其有需要的患者中治疗或预防NASH的方法,其包括向患者施用治疗有效量的修饰的FGF-21多肽,所述修饰的FGF-21多肽包含(a)无N末端Met的SEQ ID NO:102,或(b)SEQ ID NO:102。

[0287] 本文提供在对其有需要的患者中治疗或预防NASH的方法,其包括向患者施用治疗有效量的修饰的FGF-21多肽,所述修饰的FGF-21多肽包含这样的多肽,所述多肽具有与SEQ ID NO:475至少85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%相同的氨基酸序列。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含具有与SEQ ID NO:475至少95%相同的氨基酸序列的多肽。本文提供在对其有需要的患者中治疗或预防NASH的方法,其包括向对其有需要的患者施用治疗有效量的包含SEQ ID NO:475的修饰的FGF-21多肽。

[0288] 在一些实施方案中,患者可表现出NASH CRN纤维化1-3期,其任选地通过肝脏活组织检查确定。在一些实施方案中,在治疗之前,患者可表现出至少约60的脂肪肝指数。在一些实施方案中,在治疗之前,患者可表现出至少10%的肝脂肪分数百分比,其任选地通过磁

共振成像确定。

[0289] 在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗心脏衰竭或心脏纤维化的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗肾脏或肾纤维化的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物。在一些实施方案中,本发明提供一种在对其有需要的患者中治疗肺纤维化的方法,其包括向患者施用有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽或本文所述的组合物。

[0290] 在一些实施方案中,本发明提供在对其有需要的患者中治疗纤维化相关疾病的方法,其包括向患者施用有效量的包含一个或多个非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽,其中所述修饰的FGF-21多肽与具有选自SEQ ID NO:1-7和201的氨基酸序列的人FGF-21多肽具有至少90%或95%同一性,其中所述纤维化相关疾病选自NASH、肝纤维化、糖尿病性肾脏疾病、慢性肾病、肾纤维化、肺纤维化、心脏纤维化、心脏衰竭和代谢性心脏衰竭。

[0291] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽与具有选自SEQ ID NO:1-7和201的氨基酸序列的人FGF-21多肽具有至少96%、97%、98%或99%同一性。

[0292] 在一些实施方案中,本发明提供一种治疗纤维化相关疾病的方法,其包括向对其有需要的患者施用有效量的SEQ ID NO:201的修饰的FGF-21多肽,其任选地连接至可包含聚(乙二醇)的聚合物或水溶性聚合物,后者的分子量任选地为1至100kDa或约30kDa,其中所述纤维化相关疾病可选自NASH、肝纤维化、糖尿病性肾脏疾病、慢性肾病及代谢性心脏衰竭。

[0293] 在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸可位于与SEQ ID NO:1的氨基酸72、77、86、87、91、108、110、126、131或146对应的位置。在一些实施方案中,至少一个非天然编码的氨基酸可位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸108对应的位置。在一些实施方案中,至少一个非天然编码的氨基酸可位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸77、91或131对应的位置。

[0294] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸可包含苯丙氨酸类似物或衍生物。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含对-乙酰基-L-苯丙氨酸。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸可包含对-乙酰基-L-苯丙氨酸且可位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸108对应的位置。

[0295] 在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸可连接至平均分子量为约0.1kDa至约100kDa的聚(乙二醇)(PEG)或单甲氧基PEG(mPEG)部分。在一些实施方案中,至少一个非天然编码的氨基酸可连接至具有如下平均分子量的聚(乙二醇)或单甲氧基PEG(mPEG)部分:i)约0.1kDa至约100kDa;ii)约1kDa至50kDa;iii)约10kDa至40kDa;iv)约20kDa至30kDa;v)约0.050kDa至约100kDa;或vi)约100kDa、95kDa、90kDa、85kDa、80kDa、75kDa、70kDa、65kDa、60kDa、55kDa、50kDa、45kDa、40kDa、35kDa、30kDa、25kDa、20kDa、15kDa、10kDa、9kDa、8kDa、7kDa、6kDa、5kDa、4kDa、3kDa、2kDa、1kDa、900Da、800Da、700Da、600Da、500Da、400Da、300Da、200Da或100Da。在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸可连接至平均分子量为约30kDa的聚(乙二醇)。

[0296] 在一些实施方案中,所述至少一个非天然编码的氨基酸可经由肟键连接至接头、聚合物、生物活性分子或半衰期延长部分。在一些实施方案中,肟键具有由羰基与氨基氧基

的反应产生的结构。

[0297] 在一些实施方案中,修饰的FGF 21多肽可具有具氨基酸序列SEQ ID NO:1的野生型人FGF 21多肽或另一FGF-21多肽的至少一种生物活性。

[0298] 在一些实施方案中,该方法可进一步包括向所述患者施用至少一种其他活性剂,其中所述额外活性剂可含于与所述修饰的FGF-21多肽相同的组合物中或可分别施用。在一些实施方案中,所述至少一种其他活性剂可选自抗纤维化剂、N-钙粘素拮抗剂、抗N钙粘素抗体、小分子N-钙粘素拮抗剂、拮抗性N-钙粘素片段、抗炎剂、抑制肾素-血管紧张素(RAS)系统的肝保护剂、益生菌(probiotics)及多不饱和脂肪酸(PUFA)。在一些实施方案中,抗纤维化剂可选自尼达尼布(nintedanib)、吡非尼酮(Pirfenidone)、LPA1拮抗剂、LPA1受体拮抗剂、GLP1类似物、tralokinumab(IL-13,AstraZeneca)、维莫德吉(vismodegib)(刺猬拮抗剂,Roche)、PRM-151(正五聚素蛋白-2,TGFβ-1,Promedior)、SAR-156597(双特异性Mab IL-4&IL-13,Sanofi)、simtuzumab(抗赖氨酸氧化酶样2(抗LOXL2)抗体,Gilead)、CKD-942、PTL-202(PDE inh./己酮可可碱/NAC口服控制释放,Pacific Ther.)、omipalisib(口服PI3K/mTOR抑制剂,GSK)、IW-001(V型牛胶原型口服液,ImmuneWorks)、STX-100(并入素αV/β-6ant,Stromedix/Biogen)、Actimmune(IFNγ)、PC-SOD(中度歧化酶(midismase);吸入,LTT Bio-Pharma/CKD Pharm)、lebrikizumab(抗IL-13SC人源化,Roche)、AQX-1125(SHIP1活化剂,Aquinox)、CC-539(JNK抑制剂,Celgene)、FG-3019(FibroGen)和SAR-100842(Sanofi)。在一些实施方案中,肝保护剂可为熊脱氧胆酸(UDCA)或奥贝胆酸(obeticholic acid)(OCA或INT-747,Intercept)。

[0299] 在一些实施方案中,本发明提供一种组合物,其包含经调适用于治疗如本文所述的纤维化相关疾病的方法的修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂。在一些实施方案中,组合物可进一步包含至少一种其他活性剂。在一些实施方案中,至少一种其他活性剂可选自抗纤维化剂、吡非尼酮、N-钙粘素拮抗剂、抗N钙粘素抗体、小分子N-钙粘素拮抗剂、拮抗性N-钙粘素片段、抗炎剂、肝保护剂(如熊脱氧胆酸(UDCA)、奥贝胆酸(obeticholic acid)(OCA或INT-747,Intercept)、抑制肾素-血管紧张素系统(RAS)的系统)、益生菌和多不饱和脂肪酸(PUFA)。

[0300] 在一些实施方案中,本发明提供一种治疗医学上并发的肥胖的方法,其包括向对其有需要的患者施用有效量的如本文所述的修饰的FGF-21多肽或包含如本文所述的修饰的FGF-21多肽的组合物。在一些实施方案中,医学上并发的肥胖可与普拉德-威利综合征相关。

[0301] 在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或包含本文公开的修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂的组合物可口服、局部或经由注射施用。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽或组合物可经由皮下注射、IV注射、腹膜内注射、肌内注射施用。

[0302] 在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以约每天一次的频率或低于约每天一次的频率施用。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以约每周两次的频率或低于约每周两次的频率施用。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以约每周一次的频率或低于约每周两次/一次的频率施用。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以约每两周一次的频率或低于约每

周两次/每两周一次的频率施用。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以约每三周一次的频率或低于约每周两次/每三周一次的频率施用。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以约每月一次的频率或低于约每月一次的频率施用。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以每四周一次的频率施用。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以约每天一次的频率施用。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或组合物以约每周一次的频率施用。

[0303] 在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽可以如下量施用:每剂约0.01mg至约500mg、每剂约0.1mg至约200mg、每剂约0.2mg至约100mg、每剂约0.5mg至约80mg、每剂约1mg至约60mg、每剂约5mg至约40mg、每剂约10mg至约30mg、每剂约10mg至约20mg、每剂约0.2mg至约1mg、每剂约1mg至约2mg、每剂约2mg至约4mg、每剂约4mg至约6mg、每剂约6mg至约10mg、每剂约10mg至约20mg、每剂约20mg至约40mg、每剂约40mg至约60mg、每剂约60mg至约80mg、每剂约80mg至约100mg、每剂约100mg至约120mg、每剂约120mg至约140mg、每剂约140mg至约160mg、每剂约160mg至约180mg、每剂约180mg至约200mg、或每剂约200mg至约240mg。

[0304] 在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽可以选自如下的量施用:每剂约0.2mg、约0.6mg、约1mg、约2mg、约4mg,约6mg、约8mg、约10mg、约20mg、约40mg、约60mg、约80mg、约100mg、约120mg、约140mg、约160mg、约180mg、和约200mg。在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽可以选自如下的量施用:每剂量约0.2mg、约0.6mg、约2mg、约6mg、约20mg、约40mg和约60mg。

[0305] 在一些实施方案中,本文公开的修饰的FGF-21多肽或包含修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂的组合物可与至少一种其他活性剂共同施用或分别施用(同时或序贯)。在一些实施方案中,所述至少一种其他活性剂选自抗糖尿病剂、抗肥胖剂、胆固醇控制剂、抗炎剂及抗高血压剂。

[0306] 在一些实施方案中,所述至少一种其他活性剂选自他汀类、GLP-1激动剂和胰岛素。在一些实施方案中,至少一种其他活性剂选自糊精、糊精类似物、α-葡糖苷酶抑制剂(如米格列醇、阿卡波糖、伏格列波糖)、二甲双胍、双胍、格列酮类(glitazone)(如罗格列酮、吡格列酮、曲格列酮)、促分泌素(如艾塞那肽、利拉鲁肽、他司鲁肽或利西拉来)、糖尿抑制剂(glycosuric)、二肽基肽酶-4抑制剂、胰岛素、速效、短效、常效、中效或长效胰岛素、优泌乐、赖脯胰岛素、诺和乐、艾倍得、优泌林、门冬胰岛素、人胰岛素、NPH、Lente、Ultralente、兰德仕、甘精胰岛素、诺和平、地特胰岛素、阿托伐他汀(Atorvastatin)、西立伐他汀(Cerivastatin)、氟伐他汀(Fluvastatin)、洛伐他汀(Lovastatin)、美伐他汀(Mevastatin)、匹伐他汀(Pitavastatin)、普伐他汀(Pravastatin)、瑞舒伐他汀(Rosuvastatin)、辛伐他汀(Simvastatin Vytorin)、Advicor、苯磺酸酯Caduet(Besylate Caduet)、Simcor、奥利司他(Xenical)、胰脂酶抑制剂、纳曲酮、苯丁胺及托吡酯(Qsymia)、氯卡色林(Belviq)、纳曲酮、安非他酮(Contravene)、利莫那班(Acomplia))、类大麻酚受体拮抗剂、西布曲明(Meridia)、氯卡色林、利莫那班、艾塞那肽、普兰林肽、苯丁胺、托吡酯、情绪稳定剂、安非他酮、葡甘露聚糖、瓜尔胶、右旋苯丙胺(Dexedrine)、地高辛、厌食药、抗肥胖药、艾塞那肽(Byetta/Bydureon)、利拉鲁肽(Victoza)、利西拉来(Lyxumia)、阿必鲁肽(Tanzeum)、艾塞那肽长效释放(LAR)、他司鲁肽、阿必鲁肽和LY2189265(度拉糖肽)。

[0307] 有利地,本文所述的修饰的FGF-21化合物可通过如下来增加功效:允许需要较少剂量情况下较长的循环半衰期、增加对需要此类治疗的个体的便利性和个体依从给药要求的可能性二者。

[0308] 通常在表现出如下症状的至少三种的患者中诊断出代谢综合征:腹部脂肪—大多数男性中,腰为40英寸或更大;空腹血糖高—至少110毫克/分升(mg/dL);血流中的甘油三酯高—至少150mg/dL;低HDL—小于40mg/dL;和血压为130/85或更高。

[0309] 本发明方法可有效治疗或延缓对其有需要的患者的II型糖尿病和/或肥胖的发作。所述患者可经诊断患有前驱糖尿病或可表现出一个或多个患上II型糖尿病的风险因素,如II型糖尿病的家族病史;先前诊断患有II型糖尿病的一个或多个父母或兄弟姐妹;血脂异常;总血液甘油三酯水平为至少200mg/dL;血液高密度脂蛋白水平小于35mg/dL;肥胖;身体质量指数大于25kg/m^2;妊娠糖尿病病史;先前生产出生重量大于9磅的婴儿;高血压;收缩血压为至少140mmHg;舒张血压为至少90mmHg;先前测量的空腹血糖为至少99mg dL;血管疾病;多囊卵巢综合征;或黑棘皮病。

[0310] 患者可表现出一种或多种前驱糖尿病的症状,如空腹血糖水平在100mg/dL至125mg/dl;在摄入75克葡萄糖溶液或每千克体重1.75克葡萄糖的葡萄糖溶液(最大剂量达75克)之后两小时,血糖水平在140mg/dL至199mg/dL;和/或糖化血红蛋白在5.7%至6.4%。

[0311] 患者可表现出一种或多种糖尿病症状,如空腹血糖水平大于125mg/dl;在摄入75克葡萄糖溶液或每千克体重1.75克葡萄糖的葡萄糖溶液(最大剂量达75克)之后两小时血糖水平为至少200mg/dL;和/或糖化血红蛋白为至少6.5%。

[0312] 患者可为诊断为患有II型糖尿病的。

[0313] 患者可为对于用至少一种选自下组的化合物治疗难治的:GLP-1、艾塞那肽-1、毒蜥外泌肽(exendin)、毒蜥外泌肽类似物、毒蜥外泌肽激动剂、利拉鲁肽、利西拉来、阿必鲁肽、艾塞那肽LAR、DPP-4抑制剂、GLP-1受体激动剂、和另一GLP-1激动剂;或可禁止将此类化合物施用于患者。

[0314] 该方法可进一步包括在所述修饰的FGF-21多肽之外还向所述患者施用抗糖尿病剂或抗肥胖剂。所述抗糖尿病剂或抗肥胖剂可包括如下一项或多项:糊精、糊精激动剂、磺酰脲类、降钙素、胰高血糖素、PPAR-γ激动剂、GPL-1受体激动剂、二肽基肽酶IV抑制剂、糊精类似物、双胍类、多巴胺D2受体激动剂、美格列脲(meglitinide)、α-葡糖苷酶抑制剂、抗脂质异常性胆酸螯合剂、毒蜥外泌肽、毒蜥外泌肽类似物、毒蜥外泌肽激动剂、胃抑制肽(GIP)、肠降血糖素肽、胰岛素、SGLT2抑制剂、葡萄糖重吸收抑制剂、非诺贝特(fenofibrate)、贝特类(fibrate)、抗胃饥饿素(ghrelin)抗体或抗体片段、成纤维细胞生长因子受体(FGFR)-1(IIIb)、FGFR-1(IIIc)、抗体或抗体片段、和/或FGFR-4(IIIc)、抗CD38抗体或抗体片段、抗MIC-1抗体或MIC-1结合片段、二甲双胍或前述任一项的组合。

[0315] 在一例示性实施例中,所述抗糖尿病剂可为二甲双胍、甘精胰岛素(如兰德仕(Sanofi))、西他列汀(如捷诺维(Januvia))、门冬胰岛素(如诺和乐及诺和锐(NovoRapid)(Novo Nordisk))、赖脯胰岛素(如优泌乐(Eli Lillv))、利拉鲁肽(如维康特(Victoza)(Novo Nordisk))、地特胰岛素(如诺和平(Novo Nordisk))、西他列汀与二甲双胍的组合(如捷诺达(Janumet)(Merck))、比率为30/70的可溶性门冬胰岛素和鱼精蛋白结晶的门冬胰岛素(如Novo Mix 30(Novo Nordisk)或吡格列酮(如艾可拓(Actos)(Takeda))。

[0316] 该方法可有效引起体重减轻。

[0317] 与本发明的修饰的FGF-21多肽组合使用的抗糖尿病剂包括但不限于胰岛素促分泌素或胰岛素敏化剂、MGAT2抑制剂或其他抗糖尿病剂。这些药剂包括但不限于二肽基肽酶IV(DP4)抑制剂(例如西他列汀、沙格列汀(saxagliptin)、阿格列汀(alogliptin)、维格列汀(vildagliptin)等等)、双胍类(例如二甲双胍、苯乙双胍等等)、磺酰脲类(例如格列本脲(glyburide)、格列美脲(glimepiride)、格列吡嗪(glipizide)等等)、葡糖苷酶抑制剂(例如阿卡波糖、米格列醇(miglitol)等等)、PPAR γ 激动剂(如噻唑烷二酮类(例如罗格列酮、吡格列酮等等))、PPARα/ γ 双重激动剂(例如莫格列扎(muraglitazar)、替格列扎(tesaglitazar)、阿格列扎(aleglitazar)等等)、葡糖激酶活化剂(如Fyfe,M.C.T.等,Drugs of the Future,34(8):641-653(2009)中所述且通过提述并入本文)、GPR40受体调节剂、GPR119受体调节剂(MBX-2952、PSN821、APD597等等)、SGLT2抑制剂(例如达格列净(dapagliflozin)、卡格列净(canagliflozin)、瑞格列净(remagliflozin)等等)、糊精类似物(如普兰林肽)、和/或胰岛素。本发明的修饰的FGF-21多肽还可任选地与治疗糖尿病并发症的药剂组合使用。这些药剂包括PKC抑制剂和/或AGE抑制剂。

[0318] 本发明的修饰的FGF-21多肽还可任选地与一种或多种降食欲剂(hypophagic agent)组合使用,所述降食欲剂如二乙胺苯丙酮(diethylpropion)、苯二甲吗啉、苯丁胺、奥利司他、西布曲明、氯卡色林、普兰林肽、托吡酯、MCHR1受体拮抗剂、胃泌酸调节素、纳曲酮、糊精肽、NPY Y5受体调节剂、NPY Y2受体调节剂、NPY Y4受体调节剂、西替利司他(cetilistat)、5HT2c受体调节剂等。修饰的FGF-21多肽还可与胰高血糖素样肽-1受体(GLP-1R)的激动剂组合使用,所述胰高血糖素样肽-1受体(GLP-1R)的激动剂如艾塞那肽、利拉鲁肽、GPR-1(1-36)酰胺、GLP-1(7-36)酰胺、GLP-1(7-37)(如Habener的美国专利No.5,614,492中所公开,其公开内容通过提述并入本文),其可经由注射剂、鼻内或通过经皮或含服(buccal)装置施用。

[0319] 本发明的修饰的FGF-21多肽还可任选地与一种或多种其他类型的治疗剂组合使用,所述治疗剂如DGAT抑制剂、降LDL药(如他汀类(HMG CoA还原酶抑制剂)或胆固醇吸收抑制剂)、PCSK9调节剂、增加HDL的药物(如CETP抑制剂)。

[0320] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸可以连接至水溶性聚合物。在一些实施方案中,水溶性聚合物包含聚(乙二醇)部分。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸由接头连接至水溶性聚合物或键合至水溶性聚合物。在一些实施方案中,聚(乙二醇)分子是双官能聚合物。在一些实施方案中,双官能聚合物连接至第二多肽。在一些实施方案中,第二多肽是未修饰的或修饰的FGF-21多肽。

[0321] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含连接至包含聚(乙二醇)部分的水溶性聚合物的至少两个非天然编码的氨基酸。在一些实施方案中,一个或多个非天然编码的氨基酸并入修饰的FGF-21中如下位置的一项或多项中:在位置1之前(即在N末端)、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、

124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182(即在蛋白质的羧基端)(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7中的对应氨基酸)。在一些实施方案中,一个或多个非天然编码的氨基酸并入修饰的FGF-21中如下位置的一项或多项中:10、52、117、126、131、162、87、77、83、72、69、79、91、96、108及110(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一些实施方案中,一个或多个非天然编码的氨基酸并入修饰的FGF-21中如下位置的一项或多项中:10、52、77、117、126、131、162(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一些实施方案中,一个或多个非天然编码的氨基酸并入修饰的FGF-21中如下位置的一项或多项中:87、77、83、72(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一些实施方案中,一个或多个非天然编码的氨基酸并入修饰的FGF-21中如下位置的一项或多项中:69、79、91、96、108及110(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一些实施方案中,一个或多个非天然氨基酸并入SEQ ID NO:3、4、6、7或其他未修饰的或修饰的FGF-21序列的前导或信号序列中。在一些实施方案中,前导序列可选自SEQ ID NO:39、40、41、42、43或44。在一些实施方案中,将修饰的FGF-21分泌构建体克隆至pVK7ara(Nde/Eco)中,其前导序列选自SEQ ID NO:39、40、41、42、43或44。

[0322] 在一些实施方案中,这些位置的一项或多项处的非天然存在的氨基酸连接至水溶性聚合物,所述位置包括但不限于如下位置:在位置1之前(即在N末端)、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182(即在蛋白质的羧基端)(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7中的对应氨基酸)。在一些实施方案中,从SEQ ID NO:34-36中的位置1之前(即在N末端)至C末端的一个或多个位置处的非天然存在的氨基酸连接至水溶性聚合物。在一些实施方案中,这些位置的一项或多项处的非天然存在的氨基酸连接至水溶性聚合物,所述位置包括但不限于如下位置:10、52、117、126、131、162、87、77、83、72、69、79、91、96、108和110(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一些实施方案中,这些位置的一项或多项处的非天然存在的氨基酸连接至水溶性聚合物,所述位置包括但不限于如下位置:10、52、77、117、126、131、162(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一些实施方案中,这些位置的一项或多项处的非天然存在的氨基酸连接至水溶性聚合物,所述位置为:87、77、83、72(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一些实施方案中,这些位置的一项或多项处的非天然存在的氨基酸连接至水溶性聚合物,所述位置为:69、79、91、96、108和110(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID

NO:2-7的对应氨基酸)。在一些实施方案中,SEQ ID NO:3、4、6、7、39、40、41、42、43、44或其他修饰的FGF-21序列的前导或信号序列中的一个或多个非天然存在的氨基酸连接至水溶性聚合物。在一些实施方案中,SEQ ID NO:3、4、6、7或其他修饰的FGF-21序列的前导或信号序列中的一个或多个非天然存在的氨基酸连接至水溶性聚合物。

[0323] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含调节修饰的FGF-21多肽对FGF-21多肽受体或结合配偶体(包括但不限于蛋白质、多肽、小分子或核酸)的亲和力的至少一个取代、添加或缺失。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含增加修饰的FGF-21多肽的稳定性的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21的稳定性相比时或当与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含降低修饰的FGF-21多肽的免疫原性的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21的免疫原性相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含增加修饰的FGF-21多肽的血清半衰期或循环时间的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21的血清半衰期或循环时间相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。

[0324] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含降低修饰的FGF-21多肽的脱酰胺化的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21的脱酰胺化相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含增加修饰的FGF-21多肽的水溶性的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21的水溶性相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含增加宿主细胞中产生的修饰的FGF-21多肽的溶解度的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21的溶解度相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含增加修饰的FGF-21多肽在宿主细胞中的表达或增加体外合成的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21的表达或合成相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。包含此取代的修饰的FGF-21多可保持激动剂活性且保持或改进在宿主细胞中的表达水平。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含增加修饰的FGF-21多肽的蛋白酶抗性或减少蛋白酶裂解(如C末端氨基酸裂解)的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21的蛋白酶抗性相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。美国专利No.6,716,626指示可被取代以改变蛋白酶裂解的潜在位点包括但不限于脯氨酸的2个残基内的单碱基位点。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含调节修饰的FGF-21受体的信号转导活性的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21多肽相互作用时的受体活性相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含调节其与另一

分子(如受体)的结合的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21多肽的结合相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。

[0325] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含增加修饰的FGF-21多肽与制药防腐剂(例如间甲酚、苯酚、苯甲醇)的相容性的至少一个取代、添加或缺失,当与无所述至少一个取代、添加或缺失的对应FGF-21多肽的相容性相比时或与如SEQ ID NO:1、201的FGF-21多肽或另一未修饰的或修饰的FGF-21多肽的比较剂化合物相比时。此增加的相容性能够制备在存储期间维持蛋白质的生物化学特性及生物活性的储存药物配制物。通过提述以其整体并入本文的WO 2005/091944论述了具有增强的药学稳定性的FGF-21突变蛋白的如下实例:用带电和/或极性但不带电的氨基酸取代如下之一:WO05/091944的SEQ ID NO:1的甘氨酸42、谷氨酰胺54、精氨酸77、丙氨酸81、亮氨酸86、苯丙氨酸88、赖氨酸122、组氨酸125、精氨酸126、脯氨酸130、精氨酸131、亮氨酸139、丙氨酸145、亮氨酸146、异亮氨酸152、丙氨酸154、谷氨酰胺156、甘氨酸161、丝氨酸163、甘氨酸170或丝氨酸172。本发明的修饰的FGF-21多肽可包括在多肽中的对应位置处的这些取代的至少一项和/或可包括一个或多个其他取代、添加或缺失。在一些实施方案中,如下位置的一项或多项处的一个或多个非天然氨基酸被取代:甘氨酸42、谷氨酰胺54、精氨酸77、丙氨酸81、亮氨酸86、苯丙氨酸88、赖氨酸122、组氨酸125、精氨酸126、脯氨酸130、精氨酸131、亮氨酸139、丙氨酸145、脯氨酸/亮氨酸146、异亮氨酸152、丙氨酸154、谷氨酰胺156、甘氨酸161、丝氨酸163、甘氨酸170、丝氨酸172(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7中的对应氨基酸)。在一些实施方案中,如下位置的一项或多项处的一个或多个非天然氨基酸被取代:谷氨酸91、精氨酸131、谷氨酰胺108、精氨酸77、精氨酸72、组氨酸87、亮氨酸86、精氨酸126、谷氨酸110、酪氨酸83、脯氨酸146、精氨酸135、精氨酸96、精氨酸36(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7中的对应氨基酸)。

[0326] WO 05/091944描述了具有增强的药学稳定性的FGF-21的额外突变蛋白质。此类突变蛋白质包括FGF-21中如下二项或更多项的半胱氨酸的取代(参见WO 05/091944的SEQ ID NO:1):精氨酸19、酪氨酸20、亮氨酸21、酪氨酸22、苏氨酸23、天冬氨酸24、天冬氨酸25、丙氨酸26、谷氨酰胺27、谷氨酰胺28、丙氨酸31、亮氨酸33、异亮氨酸35、亮氨酸37、缬氨酸41、甘氨酸42、甘氨酸43、谷氨酸50、谷氨酰胺54、亮氨酸58、缬氨酸62、亮氨酸66、甘氨酸67、赖氨酸69、精氨酸72、苯丙氨酸73、谷氨酰胺76、精氨酸77、天冬氨酸79、甘氨酸80、丙氨酸81、亮氨酸82、甘氨酸84、丝氨酸85、脯氨酸90、丙氨酸92、丝氨酸94、苯丙氨酸95、亮氨酸100、天冬氨酸盐102、酪氨酸104、酪氨酸107、丝氨酸109、谷氨酸酯110、脯氨酸115、组氨酸117、亮氨酸118、脯氨酸119、天冬酰胺121、赖氨酸122、丝氨酸123、脯氨酸124、组氨酸125、精氨酸126、天冬氨酸127、丙氨酸129、脯氨酸130、甘氨酸132、丙氨酸134、精氨酸135、亮氨酸137、脯氨酸138或亮氨酸139。本发明的修饰的FGF-21多肽可包括在多肽中的对应位置的这些取代的至少一项和/或可包括一个或多个其他取代、添加或缺失。

[0327] WO 05/091944进一步描述,除Cys75-Cys93处天然存在的突变蛋白质以外,具有工程化的二硫键(用半胱氨酸取代的氨基酸)的FGF-21的特异性突变蛋白质为如下:Gln76Cys-Ser109Cys、Cys75-Ser85Cys、Cys75-Ala92Cys、Phe73Cys-Cys93、Ser123Cys-His125Cys、Asp102Cys-Tyr104Cys、Asp127Cys-Gly132Cys、Ser94Cys-Glu110Cys、

Pro115Cys-His117Cys、Asn121Cys-Asp127Cys、Leu100Cys-Asp102Cys、Phe95Cys-Tyr107Cys、Arg19CysPro138Cys、Tyr20Cys-Leu139Cys、Tyr22Cys-Leu137Cys、Arg77Cys-Asp79Cys、Pro90Cys-Ala92Cys、Glu50Cys-Lys69Cys、Thr23Cys-Asp25Cys、Ala31Cys-Gly43Cys、Gln28Cys-Gly43Cys、Thr23Cys-Gln28Cys、Val41Cys-Leu82Cys、Leu58Cys-Val62Cys、Gln54Cys-Leu66Cys、Ile35Cys-Gly67Cys、Gly67Cys-Arg72Cys、Ile35Cys-Gly84Cys、Arg72Cys-Gly84Cys、或Arg77Cys-Ala81Cys,其中编号基于WO 05/091944的SEQ ID NO:1。具有工程化的二硫键的其他突变蛋白质为Tyr22Cys-Leu139Cys;Asp24Cys-Arg135Cys;Leu118Cys-Gly132Cys;His117Cys-Pro130Cys;His117Cys-Ala129Cys;Leu82Cys-Pro119Cys;Gly80Cys-Ala129Cys;Gly43Cys-Pro124Cys;Gly42Cys-Arg126Cys;Gly42Cys-Pro124Cys;Gln28Cys-Pro124Cys;Gln27Cys-Ser123Cys;Ala26Cys-Lys122Cys;或Asp25Cys-Lys122Cys,其中编号基于WO 05/091944的SEQ ID NO:1。具有工程化的二硫键的其他突变蛋白质为Leu118Cys-Ala134Cys;Leu21Cys-Leu33Cys;Ala26Cys-Lys122Cys;Leu21Cys-Leu33Cys/Leu118Cys-Ala134Cys,其中编号基于WO 05/091944的SEQ ID NO:1。本发明的修饰的FGF-21多肽可包括在多肽中的对应位置的这些取代的一项或多项和/或可包括一个或多个其他取代、添加或缺失。

[0328] WO 05/091944描述了聚乙二醇化的FGF-21的额外突变蛋白质。这些突变蛋白质具有如下取代之一:D25C、D38C、L58C、K59C、P60C、K69C、D79C、H87C、E91C、E101C、D102C、L114C、L116C、K122C、R126C、P130C、P133C、P140C。WO 05/091944描述了如下位置处的半胱氨酸取代:19、21、26、28、29、30、36、39、42、50、56、61、64、65、68、70、71、77、81、85、86、90、92、94、98、107、108、112、113、123和124。WO 05/091944指示了如下位置处的半胱氨酸取代:24、27、37、40、44、46、49、57、88、89、106、110、111、115、120和139。WO 05/091944还描述了如下位置处的半胱氨酸取代:18、45、47、48、78、83、99、103、125、128、131、132和138。WO 05/091944还描述了如下位置处的半胱氨酸取代:25、38、58、59、60、69、79、87、91、101、102、114、116、122、126、130、133和140。

[0329] 本发明的修饰的FGF-21多肽可包括前述在多肽中的对应位置的取代的一项或多项和/或可包括一个或多个其他取代、添加或缺失。本文还提供包含经调配用于本文所描述的方法的修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂的组合物。

[0330] 在本发明的一些实施方案中,具有至少一个非天然氨基酸的修饰的FGF-21多肽包括至少一个翻译后修饰。在一些实施方案中,翻译后修饰在体外完成。在一些实施方案中,翻译后修饰在真核细胞中或在非真核细胞中在体内完成。

[0331] 在一些实施方案中,蛋白包括至少一个由一个宿主细胞体内完成的翻译后修饰,其中所述翻译后修饰通常不由另一个宿主细胞类型完成。在一些实施方案中,蛋白包括至少一个由真核细胞体内完成的翻译后修饰,其中所述翻译后修饰通常不由非真核细胞完成。翻译后修饰的实例包括但不限于糖基化、乙酰化、酰化、脂质修饰、棕榈酰化、棕榈酸酯基添加、磷酸化、糖脂键修饰等等。在一些实施方案中,本发明的蛋白或多肽可包含分泌或定位序列、表位标签、FLAG标签、多聚组氨酸标签、GST融合等等。

[0332] 本发明还提供PEG衍生物的水溶性和水解稳定性衍生物以及具有一个或多个乙炔或叠氮部分的相关亲水性聚合物。含有乙炔部分的PEG聚合物衍生物对与已响应于选择密码子以选择性方式引入至蛋白质中的叠氮部分偶联具有高选择性。类似地,含有叠氮部分

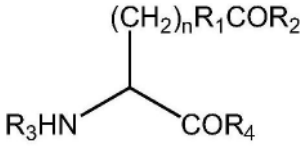
的PEG聚合物衍生物对与已响应于选择密码子以选择性方式引入至蛋白质中的乙炔部分偶联具有高选择性。

[0333] 更具体而言,叠氮部分包括但不限于烷基叠氮化物、芳基叠氮化物和这些叠氮化物的衍生物。烷基和芳基叠氮化合物的衍生物可包括其他取代基,只要维持乙炔特异性反应性即可。乙炔部分包含烷基和芳基乙炔及各自的衍生物。烷基及芳基乙炔的衍生物可包括其他取代基,只要维持叠氮特异性反应性即可。

[0334] 本发明提供具有多种官能团、取代基或部分的物质与其他物质的缀合物,所述其他物质包括但不限于标记;染料;聚合物;水溶性聚合物;聚乙二醇的衍生物;光交联剂;放射性核素;细胞毒性化合物;药物;亲和力标记;光亲和力标记;反应性化合物;树脂;第二蛋白或多肽或多肽类似物;抗体或抗体片段;金属螯合剂;辅因子;脂肪酸;糖类;多核苷酸;DNA;RNA;反义多核苷酸;糖;水溶性树状聚合物;环糊精;抑制性核糖核酸;生物材料;纳米粒子;自旋标记;荧光团;含金属的部分;放射性部分;新的官能团;与其他分子共价或非共价相互作用的基团;光笼化(photocaged)部分;光化辐射可激发的部分;可光致异构化部分;生物素;生物素衍生物;生物素类似物;并入重原子的部分;可化学裂解的基团;可光裂解的基团;延长的侧链;碳连接的糖;氧化还原活性剂;氨基硫代酸;毒性部分;经同位素标记的部分;生物物理探针;磷光基团;化学发光基团;电子致密基团;磁性基团;插入基团;发色团;能量转移剂;生物活性剂;可检测标记;小分子;量子点;纳米传递剂(nanotransmitter);放射性核苷酸;放射性传递剂(radiotransmitter);中子捕获剂;或上述物质的任何组合,或任何其他所需化合物或物质。本发明还包括具有叠氮或乙炔部分的物质与具有相应乙炔或叠氮部分的PEG聚合物衍生物的缀合物。例如,含有叠氮部分的PEG聚合物可与生物活性分子在含有带有乙炔官能团的非遗传编码氨基酸的蛋白中的位置处偶联。偶联PEG和生物活性分子的键包括但不限于Huisgen[3+2]环加成产物。

[0335] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含羰基、乙酰基、氨基氧基、肼基、酰肼基、氨基脲基、叠氮基或炔基。

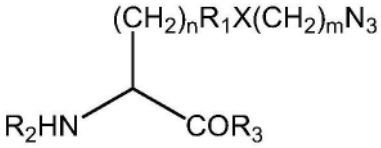
[0336] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含羰基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸具有如下结构:

[0337] 

[0338] 其中n为0-10;R_1为烷基、芳基、取代的烷基或取代的芳基;R_2为H、烷基、芳基、取代的烷基和取代的芳基;且R_3为H、氨基酸、多肽或氨基端修饰基团,且R_4为H、氨基酸、多肽或羧基端修饰基团。

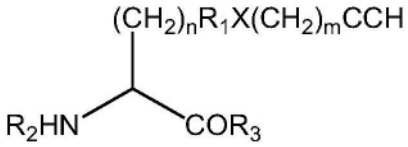
[0339] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含氨基氧基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含酰肼基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含肼基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含氨基脲基。

[0340] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸残基包含叠氮基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸具有如下结构:

[0341] 

[0342] 其中n为0-10;R_1为烷基、芳基、取代的烷基、取代的芳基或不存在;X为O、N、S或不存在;m为0-10;R_2为H、氨基酸、多肽或氨基端修饰基团,且R_3为H、氨基酸、多肽或羧基端修饰基团。

[0343] 在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含炔基。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸具有如下结构:

[0344] 

[0345] 其中n为0-10;R_1为烷基、芳基、取代的烷基或取代的芳基;X为O、N、S或不存在;m为0-10;R_2为H、氨基酸、多肽或氨基端修饰基团,且R_3为H、氨基酸、多肽或羧基端修饰基团。

[0346] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可以是激动剂、部分激动剂、拮抗剂、部分拮抗剂或反向激动剂。在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽包含连接至水溶性聚合物的非天然编码的氨基酸。在一些实施方案中,水溶性聚合物包含聚(乙二醇)部分。

[0347] 本发明还提供包含在严格条件下与SEQ ID NO:8-14杂交的多核苷酸的分离核酸。本发明还提供包含在严格条件下与SEQ ID NO:8-14杂交的多核苷酸的分离核酸,其中所述多核苷酸包含至少一个选择密码子。本发明还提供包含编码如SEQ ID NO:1-7所示多肽或本文所述的修饰的FGF-21多肽的多核苷酸的分离核酸。在一些实施方案中,本文所述的分离的多核苷酸包含至少一个选择密码子,例如编码所述修饰的FGF-21多肽中所含的非天然编码的氨基酸的选择密码子。

[0348] 在一些实施方案中,选择密码子选自下组:琥珀密码子(amber codon)、赭石密码子(ochre codon)、乳白密码子(opal codon)、独特密码子、稀有密码子、五碱基密码子和四碱基密码子。

[0349] 本发明还提供制备与水溶性聚合物连接的修饰的FGF-21多肽的方法。在一些实施方案中,该方法包括使包含非天然编码的氨基酸的分离的修饰的FGF-21多肽与包含与非天然编码的氨基酸反应的部分的水溶性聚合物接触。在一些实施方案中,并入至修饰的FGF-21多肽中的非天然编码的氨基酸对水溶性聚合物具有反应性,所述水溶性聚合物则对20种常见氨基酸的任一种均不具反应性。在一些实施方案中,并入至修饰的FGF-21多肽中的非天然编码的氨基酸对接头、聚合物或生物活性分子具有反应性,所述接头、聚合物或生物活性分子则对20种常见氨基酸的任一种均不具反应性。

[0350] 在一些实施方案中,连接至水溶性聚合物的修饰的FGF-21多肽通过使包含含羰基的氨基酸的经修饰的FGF-21多肽与包含氨基氧基、肼基、酰肼基或氨基脲基的接头、聚合物(如聚(乙二醇)分子)或生物活性分子反应制得。在一些实施方案中,氨基氧基、肼基、酰肼基或氨基脲基经由酰胺键连接至聚(乙二醇)分子。

[0351] 在一些实施方案中,连接至水溶性聚合物的修饰的FGF-21多肽通过使包含羰基的聚(乙二醇)分子与包含含氨基氧基、肼基、酰肼基或氨基脲基的非天然编码的氨基酸的多

肽反应制得。

[0352] 在一些实施方案中,连接至水溶性聚合物的修饰的FGF-21多肽通过使包含含炔烃的氨基酸的经修饰的FGF-21多肽与包含叠氮部分的聚(乙二醇)分子反应而制得。在一些实施方案中,叠氮基或炔基经由酰胺键连接至聚(乙二醇)分子。

[0353] 在一些实施方案中,连接至水溶性聚合物的修饰的FGF-21多肽通过使包含含叠氮的氨基酸的修饰的FGF-21多肽与包含炔烃部分的聚(乙二醇)分子反应制得。在一些实施方案中,叠氮基或炔基经由酰胺键连接至聚(乙二醇)分子。

[0354] 在一些实施方案中,连接至修饰的FGF-21多肽的水溶性聚合物包含聚烷撑二醇部分。在一些实施方案中,并入至修饰的FGF-21多肽中的非天然编码的氨基酸残基包含羰基、氨基氧基、酰肼基、肼、氨基脲基、叠氮基或炔基。在一些实施方案中,并入至修饰的FGF-21多肽中的非天然编码的氨基酸残基包含羰基部分,且水溶性聚合物包含氨基氧基、酰肼、肼或氨基脲部分。在一些实施方案中,并入至修饰的FGF-21多肽中的非天然编码的氨基酸残基包含炔烃部分且水溶性聚合物包含叠氮部分。在一些实施方案中,并入至修饰的FGF-21多肽中的非天然编码的氨基酸残基包含叠氮部分且水溶性聚合物包含炔烃部分。

[0355] 本发明还提供多核苷酸的细胞,所述多核苷酸编码包含选择密码子的修饰的FGF-21多肽。在一些实施方案中,所述细胞包含正交RNA合成酶和/或正交tRNA,用于将非天然编码的氨基酸取代至修饰的FGF-21多肽中。

[0356] 本发明还提供制备包含非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽的方法。在一些实施方案中,该方法包括在允许修饰的FGF-21多肽表达的条件下培养包含编码修饰的FGF-21多肽的多核苷酸、正交RNA合成酶和/或正交tRNA的细胞;并且从所述细胞和/或培养基纯化修饰的FGF-21多肽。

[0357] 本发明范围内包括与修饰的FGF-21编码区接合(joined to)的FGF-21前导或信号序列,以及与修饰的FGF-21编码区接合的异源信号序列。所选的异源前导或信号序列应当是被识别并由例如宿主细胞分泌系统处理以分泌并可能由宿主细胞通过信号肽酶裂解的前导或信号序列。本发明的前导序列可选自如下:来自SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:6的三个亮氨酸前导子(氨基酸位置1-28)、来自SEQ ID NO:4和SEQ ID NO:7的两个亮氨酸前导子(氨基酸位置1-27)、来自SEQ ID NO:2的His标签(氨基酸位置1-10)、SEQ ID NO:39、SEQ ID NO:40、SEQ ID NO:41、SEQ ID NO:42、SEQ ID NO:43、SEQ ID NO:44。一种用本发明的修饰的FGF-21治疗病况或病症的方法意在暗示用有或无信号肽或前导肽的修饰的FGF-21多肽治疗。

[0358] 本发明还提供诱导脂肪细胞中的葡萄糖摄取增加的方法,该方法包括向所述细胞施用有效诱导葡萄糖摄取增加的量的修饰的FGF-21。所述葡萄糖摄取增加可通过更快且更有效的葡萄糖利用引起能量消耗增加。

[0359] II.用于本发明的修饰的FGF-21多肽的通用重组核酸和方法

[0360] 在本发明的许多实施方案中,可分离、克隆且通常使用重组方法改变所编码感兴趣的修饰的FGF-21多肽的核酸。此类实施方案可用于包括但不限于蛋白表达或在变体、衍生物、表达盒或衍生自修饰的FGF-21多肽的其他序列的产生过程中。在一些实施方案中,编码本发明的修饰的FGF-21多肽的序列可操作性地连接至异源启动子。在一些实施方案中,使用本领域中熟知的技术,可针对大肠杆菌或哺乳动物细胞(例如CHO)表达来优化编码修

饰的FGF-21多肽的多核苷酸序列中的DNA密码子使用。

[0361] 编码无前导序列的P型FGF-21的例示性cDNA示于SEQ ID NO:8。此多肽示于SEQ ID NO:1。

[0362] 编码无前导序列的His标记的P型FGF-21的例示性cDNA示于SEQ ID NO:9。此多肽示于SEQ ID NO:2。

[0363] 编码含有总计3个亮氨酸的有前导序列的P型FGF-21的例示性cDNA示于SEQ ID NO:10。此多肽示于SEQ ID NO:3。

[0364] 编码含有总计2个亮氨酸的有前导序列的P型FGF-21的例示性cDNA示于SEQ ID NO:11。此多肽示于SEQ ID NO:4。

[0365] 编码无前导序列的L型FGF-21的例示性cDNA示于SEQ ID NO:12。此多肽示于SEQ ID NO:5。

[0366] 编码含有总计3个亮氨酸的有前导序列的L型FGF-21的例示性cDNA示于SEQ ID NO:13。此多肽示于SEQ ID NO:6。

[0367] 编码含有总计2个亮氨酸的有前导序列的L型FGF-21的例示性cDNA示于SEQ ID NO:14。此多肽示于SEQ ID NO:7。

[0368] 编码本文所述的修饰的FGF-21多肽的核苷酸序列可基于亲本多肽的氨基酸序列合成,包括但不限于具有SEQ ID NO:1-7中所示的氨基酸序列,然后改变核苷酸序列以实现相关氨基酸残基的引入(即并入或取代)或移除(即缺失或取代)。核苷酸序列可方便地根据常规方法通过定点诱变来修饰。或者,核苷酸序列可通过化学合成来制备,包括但不限于通过使用寡核苷酸合成仪,其中寡核苷酸基于所需多肽的氨基酸序列来设计,并优选为选择在生产重组多肽的宿主细胞中有利的那些密码子。例如,若干编码所需多肽的一部分的小寡核苷酸可通过PCR、连接或连接链式反应合成并组装。参见例如Barany等,Proc.Natl.Acad.Sci.88:189-193(1991);美国专利6,521,427,其通过提述并入本文。

[0369] 本发明还涉及用于经由正交tRNA/RS对在体内并入非天然氨基酸的真核宿主细胞、非真核宿主细胞和生物体。宿主细胞用本发明的多核苷酸或包括本发明的多核苷酸的构建体进行遗传工程化(包括但不限于转化、转导或转染),其包括但不限于本发明的载体,其可以是例如克隆载体或表达载体。例如,正交tRNA、正交tRNA合成酶和待衍生化的蛋白的编码区可操作性地连接至在所需宿主细胞中发挥功能的基因表达控制元件。载体可以是例如呈质粒、粘粒、噬菌体、细菌、病毒、裸多核苷酸或缀合多核苷酸的形式。可通过标准方法将载体引入至细胞和/或微生物中。

[0370] 选择密码子(Selector codons)

[0371] 本发明的选择密码子扩大了蛋白质生物合成机器的遗传密码子框架。例如,选择密码子包括但不限于独特的三碱基密码子、无义密码子(如终止密码子,包括但不限于琥珀密码子(UAG)、赭石密码子或乳白密码子(UGA))、非天然密码子、四个或四个以上碱基密码子、稀有密码子,等等。本领域普通技术人员显而易见,有广泛数量的选择密码子可引入至所需基因或多核苷酸中,包括但不限于单个多核苷酸中的一个或多个、两个或更多个、三个或更多个、4、5、6、7、8、9、10或更多个,其编码修饰的FGF-21多肽的至少一部分。

[0372] 在一个实施方案中,该方法涉及使用选择密码子,其是用于体内并入一个或多个非天然(即非天然编码的)氨基酸的终止密码子。例如,生产识别终止密码子(包括但不限于

UAG)的O-tRNA,并通过具有所需非天然氨基酸的O-RS将其氨基酰化。此O-tRNA不被天然存在的宿主的氨基酰基-tRNA合成酶识别。常规定点突变诱导可用于在感兴趣的多肽中的感兴趣的位点处引入终止密码子,包括但不限于TAG。参见例如Sayers,J.R.等,(1988),5'-3' Exonucleases in phosphorothioate-based oligonucleotide-directed mutagenesis.Nucleic Acids Res,16:791-802。当O-RS、O-tRNA和编码感兴趣的多肽的核酸在体内组合时,非天然氨基酸响应于UAG密码子而并入,从而得到在指定位置含有非天然氨基酸的多肽。

[0373] 可在不显著干扰真核宿主细胞的情况下于体内并入非天然氨基酸。例如,因为UAG密码子的抑制效率取决于O-tRNA(包括但不限于琥珀抑制子tRNA)与真核释放因子(包括但不限于eRF)(其与终止密码子结合且起始生长肽从核糖体释放)之间的竞争,抑制效率可通过包括但不限于增加O-tRNA和/或抑制子tRNA的表达水平来调节。

[0374] 还可用稀有密码子编码非天然氨基酸。例如,当体外蛋白质合成反应中的精氨酸浓度降低时,已证实稀有精氨酸密码子AGG可通过用丙氨酸酰化的合成tRNA来有效插入Ala。参见例如Ma等,Biochemistry,32:7939(1993)。在此情况下,合成tRNA与天然存在的tRNAArg竞争,后者作为次要物种存在于大肠杆菌中。一些生物体并不使用所有的三联体密码子。腾黄微球菌(Micrococcus luteus)中的未指定密码子AGA已用于体外转录/翻译提取物中的氨基酸插入。参见例如Kowal及Oliver,Nucl.Acid.Res.,25:4685(1997)。可生产本发明的组分以体内使用这些稀有密码子。

[0375] 选择密码子还包含延长密码子,包括但不限于四个或更多个碱基的密码子,如四个、五个、六个或六个以上碱基的密码子。四碱密码子的实例包括但不限于AGGA、CUAG、UAGA、CCCU等。五碱密码子的实例包括但不限于AGGAC、CCCCU、CCCUC、CUAGA、CUACU、UAGGC等。本发明的特征包括使用基于移码抑制的延长的密码子。四个或更多个碱基的密码子可将(包括但不限于)一个或多个非天然氨基酸插入至同一蛋白中。例如,在存在突变O-tRNA(包括但不限于具有反密码子环,例如具有至少8-10nt反密码子环的特定移码抑制子tRNA)的情况下,将四个或更多个碱基的密码子读为单个氨基酸。在其他实施方案中,反密码子环可解码(包括但不限于)至少一个四碱基密码子、至少一个五碱基密码子或至少一个六碱基密码子或更多。因为存在256个可能的四碱基密码子,故可以在同一细胞中使用四个或更多个碱基的密码子编码多个非天然氨基酸。

[0376] 在一个实施方案中,可在本发明中使用基于稀有密码子或无义密码子的延长密码子,其可以减少其他不合需要的位点处的错义连读和移码抑制。

[0377] 对于给定系统,选择密码子还可包括天然的三碱基密码子之一,其中内源系统不使用(或很少使用)天然碱基密码子。例如,其包括缺乏识别天然三碱基密码子的tRNA的系统和/或三碱基密码子是稀有密码子的系统。

[0378] 选择密码子任选地包括非天然碱基对。这些非天然碱基对进一步扩充现有遗传密码代号。一个额外碱基对使三联体密码子的数量从64增加至125。第三碱基对的特性包括稳定和选择性碱基配对、通过聚合酶在高保真度下有效酶促并入至DNA中及在新生非天然碱基对的合成后的有效持续引物延伸。可适用于方法及组合物的非天然碱基对的描述包括例如Hirao等,(2002),Nature Biotechnology,20:177-182。还参见Wu,Y等,(2002) J.Am.Chem.Soc.124:14626-14630。

[0379] 可使用本领域普通技术人员已知及本文所述的方法诱变编码感兴趣的蛋白或多肽(如修饰的FGF-21多肽)的基因以使其包括例如一个或多个用于并入非天然氨基酸的选择密码子。例如,诱变感兴趣的蛋白的核酸以使其包括一个或多个选择密码子,从而并入一个或多个非天然氨基酸。本发明包括任何此类变体,包括但不限于任何蛋白的突变体型式,例如包括至少一个非天然氨基酸。

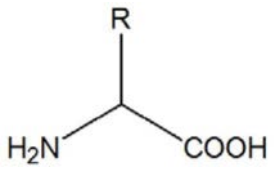
[0380] 编码感兴趣的蛋白(如修饰的FGF-21多肽)的核酸分子可容易地突变以在该多肽的任何所需位置引入半胱氨酸。半胱氨酸广泛用以将反应性分子、水溶性聚合物、蛋白或多种其他分子引入至感兴趣的蛋白上。

[0381] III.非天然编码的氨基酸

[0382] 多种非天然编码的氨基酸适用于本发明。可将任何数量的非天然编码的氨基酸引入至修饰的FGF-21多肽中。一般地,引入的非天然编码的氨基酸对20种常见的遗传编码的氨基酸(即丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、苏氨酸、色氨酸、酪氨酸和缬氨酸)基本上呈化学惰性。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含侧链官能团,其与20种常见氨基酸中没有的官能团(包括但不限于叠氮基、酮基、醛基和氨基氧基)有效和选择性地反应以形成稳定缀合物。例如,包含含有叠氮基官能团的非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽可与聚合物(包括但不限于聚(乙二醇)或者含有炔烃部分的第二多肽)反应以形成稳定缀合物,由叠氮基与炔基官能团的选择性反应以形成Huisgen[3+2]环加成产物得到。

[0383] α-氨基酸的通用结构如下(式I)所示:

[0384] I

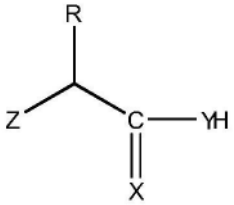
[0385] 

[0386] 非天然编码的氨基酸通常是具有以上所列举的式的任何结构,其中R基团是除用于二十个天然氨基酸中的取代基外的任何取代基,且可适用于本发明的修饰的FGF-21多肽中。因为本发明的非天然编码的氨基酸与天然氨基酸的不同于通常仅在于侧链结构,所以非天然编码的氨基酸与其他氨基酸(包括但不限于天然或非天然编码的氨基酸)形成酰胺键,其形成的方式与它们在天然存在的多肽中形成的方式相同。然而,非天然编码的氨基酸的侧链基团将其与天然氨基酸区分开来。例如,R任选地包括烷基-、芳基-、酰基-、酮基-、叠氮基-、羟基-、肼、氰基-、卤素-、酰肼、烯基、炔基、醚、硫醇、硒-、磺酰-、硼酸酯基(borate)、硼酸酯基(boronate)、磷酸基、膦酰基、膦化氢(phosphine)、杂环、烯酮(enone)、亚胺、醛、酯、硫代酸、羟胺、氨基等等或其任何组合。

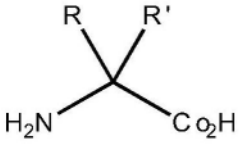
[0387] 可适用于本发明且适用于与水溶性聚合物反应的例示性非天然编码的氨基酸包括但不限于具有羰基、氨基氧基、肼、酰肼、氨基脲、叠氮和炔烃反应性基团的那些氨基酸。在一些实施方案中,非天然编码的氨基酸包含糖部分。此类氨基酸的实例包括N-乙酰基-L-葡糖氨基-L-丝氨酸、N-乙酰基-L-半乳糖氨基-L-丝氨酸、N-乙酰基-L-葡糖氨基-L-苏氨酸、N-乙酰基-L-葡糖氨基-L-天冬酰胺和O-甘露糖氨基-L-丝氨酸。

[0388] 多种本文提供的非天然编码的氨基酸可购自例如Sigma-Aldrich(St.Louis,MO,USA))、Novabiochem(EMD Biosciences的分公司,Darmstadt,Germany)或Peptech(Burlington,MA,USA)。不能从商业上获得的那些氨基酸任选地如本文提供的或使用本领域普通技术人员已知的标准方法合成。对于有机合成技术,参见例如Fessendon和Fessendon的Organic Chemistry(1982,第二版,Willard Grant Press,Boston Mass.);March的Advanced Organic Chemistry(第三版,1985,Wiley and Sons,New York);和Carey和Sundberg的Advanced Organic Chemistry(第三版,A和B部分,1990,Plenum Press,New York)。还参见美国专利No.7,045,337和7,083,970,其通过提述并入本文。除含有新的侧链的非天然氨基酸以外,可适用于本发明的非天然氨基酸还任选地包含修饰的主链结构,包括但不限于如式II和式III的结构所示的主链结构:

[0389] II

[0390] 

[0391] III

[0392] 

[0393] 其中Z通常包含OH、NH_2、SH、NH-R'或S-R';X和Y,其可为相同或不同的,通常包含S或O,且R和R',其任选地是相同或不同的,通常选自上文针对具有式I的非天然氨基酸所述的R基团的相同的组分列表,以及氢。例如,本发明的非天然氨基酸任选地包含如式II和III所示的氨基或羧基中的取代。此类型的非天然氨基酸包括但不限于α-羟基酸、α-硫代酸、α-氨基硫代羧酸,包括但不限于具有与常见二十种天然氨基酸对应的侧链或非天然侧链的氨基酸。此外,在α-碳处的取代任选地包括但不限于L、D或α-α-二取代氨基酸,如D-谷氨酸、D-丙氨酸、D-甲基-O-酪氨酸、氨基丁酸等。其他结构性替代物包括环状氨基酸,如脯氨酸类似物以及3、4、6、7、8及9元环脯氨酸类似物、β和γ氨基酸,如取代的β-丙氨酸和γ-氨基丁酸。

[0394] 多种非天然氨基酸基于天然氨基酸,如酪氨酸、谷氨酰胺、苯丙氨酸等等,且适用于本发明。酪氨酸类似物包括但不限于对位取代的酪氨酸、邻位取代的酪氨酸及间位取代的酪氨酸,其中取代的酪氨酸包含(包括但不限于)酮基(包括但不限于乙酰基)、苯甲酰基、氨基、肼、羟基胺、硫醇基、羧基、异丙基、甲基、C_6-C_{20}直链或支链烃、饱和或不饱和烃、O-甲基、聚醚基、硝基、炔基等等。此外,还涵盖经多次取代的芳基环。可适用于本发明的谷氨酰胺类似物包括但不限于α-羟基衍生物、γ-取代的衍生物、环状衍生物及酰胺取代的谷氨酰胺衍生物。可适用于本发明的实例苯丙氨酸类似物包括但不限于对位取代的苯丙氨酸、邻位取代的苯丙氨酸和间位取代的苯丙氨酸,其中所述取代基包含(包括但不限于)羟基、甲氧基、甲基、烯丙基、醛、叠氮基、碘基、溴基、酮基(包括但不限于乙酰基)、苯甲酰基、炔基等。可适用于本发明的非天然氨基酸的具体实例包括但不限于对乙酰基-L-苯丙氨酸、O-甲基-L-酪氨酸、L-3-(2-萘基)丙氨酸、3-甲基-苯丙氨酸、O-4-烯丙基-L-酪氨酸、4-丙基-L-

酪氨酸、三-O-乙酰基-GlcNAcβ-丝氨酸、L-Dopa、氟化苯丙氨酸、异丙基-L-苯丙氨酸、对叠氮基-L-苯丙氨酸、对酰基-L-苯丙氨酸、对苯甲酰基-L-苯丙氨酸、L-磷酸丝氨酸、膦酰基丝氨酸、膦酰基酪氨酸、对碘-苯丙氨酸、对溴苯丙氨酸、对氨基-L-苯丙氨酸、异丙基-L-苯丙氨酸和对炔丙氧基-苯丙氨酸等。

[0395] 在一个实施方案中,提供包含非天然氨基酸(如对(炔丙氧基)-苯丙氨酸)修饰的FGF-21多肽的组合物。还提供包含对(炔丙氧基)-苯丙氨酸及(包括但不限于)蛋白和/或细胞的各种组合物。在一个方面,包括对(炔丙氧基)-苯丙氨酸非天然氨基酸的组合物进一步包括正交tRNA。非天然氨基酸可结合(包括但不限于共价)至正交tRNA,包括但不限于经由氨基-酰基键共价结合至正交tRNA、共价结合至正交tRNA的末端核糖的3'OH或2'OH等。

[0396] 本文所述的修饰的FGF-21多肽可包含美国专利No.8,012,931中所述的非天然编码的氨基酸,其通过提述以其整体并入本文。

[0397] 非天然氨基酸的结构和合成:羰基、羰基样、掩蔽羰基(MASKED CARBONYL)、受保护的羰基和羟胺基团

[0398] 在一些实施方案中,本发明提供通过肟键连接至水溶性聚合物(例如PEG)的修饰的FGF-21。多种类型的非天然编码的氨基酸适用于形成肟键。这些氨基酸包括但不限于含有羰基、二羰基、羰基样、掩蔽羰基、受保护的羰基或羟胺基团的非天然编码的氨基酸。此类氨基酸、其结构及合成描述于美国专利No 8,012,931中,其通过提述以其整体并入本文。

[0399] IV.非天氨基酸的结构和合成:含羟胺的氨基酸

[0400] 美国临时专利申请No.60/638,418通过提述以其整体并入本文。因此,美国临时专利申请No.60/638,418中第V节(名称为"Non-natural Amino Acids Amino Acids"),B部分(名称为"Structure and Synthesis of Non-Natural Amino Acids:Hydroxylamine-Containing Amino Acids")中提供的公开内容完全适用于生产、纯化、表征及使用本文所述的非天然氨基酸、非天然氨基酸多肽和修饰的非天然氨基酸多肽的方法、组合物、技术及策略,其适用程度如同这些公开内容完全存在于本文中一般。美国专利公开No.2006/0194256、2006/0217532及2006/0217289和名称为"Compositions containing,methods involving,and uses of non-natural amino acids and polypeptides"的WO 2006/069246也通过提述以其整体并入本文。

[0401] 非天然氨基酸的化学合成

[0402] 许多适用于本发明的非天然氨基酸可购自例如Sigma(USA)或Aldrich(Milwaukee,WI,USA)。商业上不可获得的那些氨基酸任选地如本文中所提供的或如各种出版物中所提供的或使用本领域普通技术人员已知的标准方法来合成。对于有机合成技术,参见例如Fessendon和Fessendon的Organic Chemistry(1982,第二版,Willard Grant Press,Boston Mass.);March的Advanced Organic Chemistry(第三版,1985,Wiley and Sons,New York);和Carey和Sundberg的Advanced Organic Chemistry(第三版,部分A和B,1990,Plenum Press,New York)。描述非天然氨基酸合成的其他出版物包括例如名称为"In vivo incorporation of Unnatural Amino Acids"的WO 2002/085923;Matsoukas等,(1995)J.Med.Chem.,38,4660-4669;King,F.E.和Kidd,D.A.A.(1949)A New Synthesis of Glutamine and of γ-Dipeptides of Glutamic Acid from Phthylated Intermediates.J.Chem.Soc.,3315-3319;Friedman,O.M.和Chatterrji,R.(1959)

Synthesis of Derivatives of Glutamine as Model Substrates for Anti-Tumor Agents.J.Am.Chem.Soc.81,3750-3752;Craig,J.C.等(1988)Absolute Configuration of the Enantiomers of 7-Chloro-4[[4-(diethylamino)-1-methylbutyl]amino]quinolone (Chloroquine).J.Org.Chem.53,1167-1170;Azoulay,M.,Vilmont,M.和Frappier,F.(1991)Glutamine analogues as Potential Antimalarials,Eur.J.Med.Chem.26,201-5;Koskinen,A.M.P.和Rapoport,H.(1989)Synthesis of 4-Substituted Prolines as Conformationally Constrained Amino Acid Analogues.J.Org.Chem.54,1859-1866;Christie,B.D.和Rapoport,H.(1985)Synthesis of Optically Pure Pipecolates from L-Asparagine.Application to the Total Synthesis of(+)-Apovincamine through Amino Acid Decarbonylation and Iminium Ion Cyclization.J.Org.Chem.50:1239-1246;Barton等,(1987)Synthesis of Novel alpha-Amino-Acids and Derivatives Using Radical Chemistry:Synthesis of L-and D-alpha-Amino-Adipic Acids,L-alpha-aminopimelic Acid and Appropriate Unsaturated Derivatives.Tetrahedron 43:4297-4308;和Subasinghe等,(1992)Quisqualic acid analogues:synthesis of beta-heterocyclic2-aminopropanoic acid derivatives and their activity at a novel quisqualate-sensitized site.J.Med.Chem.35:4602-7。还参见名为“Protein Arrays”的美国专利公开No.U.S.2004/0198637,其通过提述并入本文。

[0403] A.羰基反应性基团

[0404] 具有羰基反应性基团的氨基酸允许多种反应以经由亲核加成或醇醛缩合反应(除其他之外)连接分子(包括但不限于PEG或其他水溶性分子)。

[0405] 对乙酰基-(+/-)-苯丙氨酸和间乙酰基-(+/-)-苯丙氨酸的合成描述于Zhang,Z.等,Biochemistry 42:6735-6746(2003)中,其通过提述并入本文。其他含羰基的氨基酸可由本领域普通技术人员类似地制备。

[0406] 在一些实施方案中,包含非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽可经化学修饰产生反应性羰基官能团。例如,可由具有相邻氨基及羟基的官能团产生适用于结合反应的醛官能团。例如,当生物活性分子是多肽时,可使用N末端丝氨酸或苏氨酸(其可正常存在或可经由化学或酶促消化而暴露)在使用过碘酸盐的温和氧化裂解条件下产生醛官能团。参见例如Gaertner等,Bioconjug.Chem.3:262-268(1992);Geoghegan,K.和Stroh,J.,Bioconjug.Chem.3:138-146(1992);Gaertner等,J.Biol.Chem.269:7224-7230(1994)。然而,本领域中已知的方法局限于肽或蛋白的N末端处氨基酸。

[0407] 在本发明中,带有相邻羟基和氨基的非天然编码的氨基酸可并入至多肽中作为“掩蔽”醛官能团。例如,5-羟基赖氨酸在邻近ε胺处带有羟基。用于产生醛的反应条件通常涉及在温和条件下添加摩尔浓度过量的偏过碘酸钠,以避免在多肽内的其他位点发生氧化。氧化反应的pH值通常是约7.0。典型反应涉及将约1.5摩尔浓度过量的偏过碘酸钠添加至多肽缓冲溶液中,随后在暗处温育约10分钟。参见例如美国专利No.6,423,685,其通过提述并入本文。

[0408] 羰基官能团可在水溶液中在温和条件下以选择性方式与含有肼、酰肼、羟胺或氨基脲的试剂反应,以分别形成在生理条件下稳定的相应腙、肟或缩氨基脲键。参见例如Jencks,W.P.,J.Am.Chem.Soc.81,475-481(1959);Shao,J.和Tam,J.P.,

J.Am.Chem.Soc.117:3893-3899(1995)。此外,羰基的独特反应性允许在存在其他氨基酸侧链的情况下进行选择性修饰。参见例如Cornish,V.W.等,J.Am.Chem.Soc.118:8150-8151(1996);Geoghegan,K.F.和Stroh,J.G.,Bioconjug.Chem.3:138-146(1992);Mahal,L.K.等,Science 276:1125-1128(1997)。

[0409] B.肼、酰肼或氨基脲反应性基团

[0410] 含有亲核基团(如肼、酰肼或氨基脲)的非天然编码的氨基酸可与多种亲电子基团反应以形成缀合物(包括但不限于与PEG或其他水溶性聚合物)。

[0411] 含酰肼、含肼和含氨基脲的氨基酸可购自商业来源。例如,L-谷氨酸-γ-酰肼可购自Sigma Chemical(St.Louis,MO)。其他商业上不可获得的氨基酸可由本领域普通技术人员制备。参见例如美国专利No.6,281,211,其通过提述并入本文。

[0412] 含有带有酰肼、肼或氨基脲官能团的非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽可与含有醛或具有类似化学反应性的其他官能团的多种分子有效和选择性地反应。参见例如Shao,J.和Tam,J.,J.Am.Chem.Soc.117:3893-3899(1995)。酰肼、肼和氨基脲官能团的独特反应性使其对醛、酮及其他亲电子基团的反应性显著大于20种常见氨基酸上存在的亲核基团(包括但不限于丝氨酸或苏氨酸的羟基或赖氨酸的氨基及N末端)。

[0413] C.含氨基氧基的氨基酸

[0414] 含有氨基氧基(也称为羟胺)的非天然编码的氨基酸允许其与多种亲电子基团反应以形成缀合物(包括但不限于与PEG或其他水溶性聚合物)。与肼、酰肼和氨基脲相似地,氨基氧基的增强的亲核性允许其与多种含有醛或具有类似化学反应性的其他官能团的分子有效和选择性地反应。参见例如Shao,J.和Tam,J.,J.Am.Chem.Soc.117:3893-3899(1995);H.Hang和C.Bertozzi,Acc.Chem.Res.34:727-736(2001)。鉴于与肼基团反应的结果是对应的腙,然而,肟一般由氨基氧基与含羰基的基团(如酮)的反应产生。

[0415] 可由容易获得的氨基酸前体(高丝氨酸、丝氨酸和苏氨酸)制备含氨基氧基的氨基酸。参见例如M.Carrasco和R.Brown,J.Org.Chem.68:8853-8858(2003)。已从天然来源中分离出一些含氨基氧基的氨基酸,如L-2-氨基-4-(氨基氧基)丁酸(Rosenthal,G.,Life Sci.60:1635-1641(1997)。其他含氨基氧基的氨基酸可由本领域普通技术人员制备。

[0416] D.叠氮和炔烃反应性基团

[0417] 叠氮和炔烃官能团的独特反应性使得其极其适用于多肽及其他生物分子的选择性修饰。有机叠氮化物,具体而言脂肪族叠氮化物,和炔烃通常对常见化学反应条件是稳定的。具体而言,叠氮和炔烃官能团对见于天然存在的多肽中的20种常见氨基酸的侧链(即R基团)是惰性的。然而,当使叠氮和炔基团紧密靠近时,表现出二者的“弹簧承载(spring-loaded)”性质且其通过Huisgen[3+2]环加成反应以选择性地且有效地反应以产生对应的三唑。参见例如Chin J.,等,Science 301:964-7(2003);Wang,Q.,等,J.Am.Chem.Soc.125,3192-3193(2003);Chin,J.W.,等,J.Am.Chem.Soc.124:9026-9027(2002)。

[0418] 因为Huisgen环加成反应涉及选择性环加成反应(参见例如Padwa,A.,COMPREHENSIVE ORGANIC SYNTHESIS,第4期,(Trost,B.M.编,1991),第1069-1109页;Huisgen,R.1,3-DIPOLAR CYCLOADDITION CHEMISTRY,(Padwa,A.编,1984),第1-176页)而非亲核取代,带有含叠氮及炔烃侧链的非天然编码的氨基酸的并入使所得多肽在非天然编码的氨基酸的位置处被选择性修饰。涉及含叠氮或炔烃的修饰的FGF-21多肽的环加成反应

可在室温于水溶液条件下以催化量的使Cu(II)原位还原为Cu(I)的还原剂存在下通过添加Cu(II)(包括但不限于催化量的$CuSO_4$形式)进行。参见例如Wang,Q.,等,J.Am.Chem.Soc.125,3192-3193(2003);Tornoe,C.W.,等,J.Org.Chem.67:3057-3064(2002);Rostovtsev,等,Angew.Chem.Int.Ed.41:2596-2599(2002)。例示性的还原剂包括(包括但不限于)抗坏血酸盐、金属铜、奎宁、对苯二酚、维生素K、谷胱甘肽、半胱氨酸、Fe^{2+}、Co^{2+}和所施加的电势。

[0419] 在一些情况下,在需要叠氮与炔烃之间的Huisgen[3+2]环加成反应的情况下,修饰的FGF-21多肽可包含含炔烃部分的非天然编码的氨基酸,且待附接至氨基酸的水溶性聚合物可包含叠氮部分。或者,还可进行逆反应(即与氨基酸上的叠氮部分和存在于水溶性聚合物上的炔烃部分)。

[0420] 叠氮官能团还可选择性地与含有芳基酯的水溶性聚合物反应且由芳基膦部分适当官能化以产生酰胺键。芳基膦基团原位还原叠氮基且所得的胺接着与临近的酯键有效反应以产生对应的酰胺。参见例如E.Saxon和C.Bertozzi,Science 287,2007-2010(2000)。含叠氮化物的氨基酸可为烷基叠氮化物(包括但不限于2-氨基-6-叠氮基-1-己酸)或芳基叠氮化物(对叠氮基-苯丙氨酸)。

[0421] 叠氮官能团还可选择性地与含有硫酯的水溶性聚合物反应且由芳基膦部分适当官能化以产生酰胺键。芳基膦基团原位还原叠氮基且所得的胺接着与硫酯键有效反应以产生对应的酰胺。

[0422] 含炔烃的氨基酸是商业上可获得的。例如,炔丙基甘氨酸可购自Peptech(Burlington,MA)。或者,含炔烃的氨基酸可根据标准方法制备。例如,对炔丙基氧基苯丙氨酸可按照例如Deiters,A.,等,J.Am.Chem.Soc.125:11782-11783(2003)中所述合成且4-炔基-L-苯丙氨酸可如Kayser,B.,等,Tetrahedron 53(7):2475-2484(1997)中所述合成。其他含炔烃氨基酸可由本领域普通技术人员制备。

[0423] 含叠氮基氨基酸可购自商业来源。例如,4-叠氮基苯丙氨酸可获自Chem-Impex International,Inc.(Wood Dale,IL)。对于商业上不可获得的那些含叠氮基氨基酸,叠氮基可使用本领域普通技术人员已知的标准方法相对容易地制备,包括但不限于经由合适的离去基团(包括但不限于卤化物、甲磺酸酯基、甲苯磺酸酯基)的移位(displacement)或经由打开受适当保护的内酯。参见例如March的Advanced Organic Chemistry(第三版,1985,Wiley and Sons,New York)。

[0424] 可经由[3+2]环加成添加的本发明蛋白中的分子包括具有叠氮或炔基衍生物的几乎任何分子。分子包括但不限于染料、荧光团、交联剂、糖衍生物、聚合物(包括但不限于包含聚乙二醇的聚合物)、光交联剂、细胞毒性化合物、亲和标签、生物素衍生物、树脂、珠粒、第二蛋白或多肽(或更多)、多核苷酸(包括但不限于DNA、RNA等)、金属螯合剂、辅因子、脂肪酸、糖类等。可将这些分子添加至分别具有炔基(包括但不限于对炔丙基氧基苯丙氨酸)或叠氮基(包括但不限于对叠氮基-苯丙氨酸)的非天然氨基酸中。

[0425] E.氨基硫醇反应性基团

[0426] β-取代的氨基硫醇官能团的独特反应性使其极其适用于通过形成噻唑烷而选择性修饰含有醛基的多肽和其他生物分子。参见例如J.Shao和J.Tam,J.Am.Chem.Soc.1995,117(14)3893-3899。在一些实施方案中,可以将β-取代的氨基硫醇氨基酸并入修饰的FGF-

21多肽中,接着与包含醛官能团的水溶性聚合物反应。在一些实施方案中,水溶性聚合物、药物缀合物或其他有效负载物(payload)可通过形成噻唑烷与包含β取代的氨基硫醇氨基酸的修饰的FGF-21多肽偶联。

[0427] F.额外反应性基团

[0428] 可并入至本发明的修饰的FGF-21多肽中的额外反应性基团及非天然编码的氨基酸描述于如下专利申请中,其全部通过提述以其整体并入本文:美国专利公开No.2006/0194256、美国专利公开No.2006/0217532、美国专利公开No.2006/0217289、美国临时专利No.60/755,338;美国临时专利No.60/755,711;美国临时专利No.60/755,018;国际专利申请No.PCT/US06/49397;WO 2006/069246;美国临时专利No.60/743,041;美国临时专利No.60/743,040;国际专利申请No.PCT/US06/47822;美国临时专利No.60/882,819;美国临时专利No.60/882,500;和美国临时专利No.60/870,594。

[0429] 非天然氨基酸的细胞摄取

[0430] 细胞的非天然氨基酸摄取是在设计并选择非天然氨基酸(包括但不限于用于并入蛋白)时通常考虑的一个问题。例如,α-氨基酸的高电荷密度指示这些化合物不太可能是可穿透细胞的。天然氨基酸通过一系列基于蛋白的转运系统吸收至真核细胞中。可进行快速筛选来评估哪些非天然氨基酸(若存在的话)被细胞吸收。参见例如名称为“蛋白阵列(Protein Arrays)”的美国专利公开No.U.S.2004/0198637中的毒性测定法,其通过提述并入本文;及Liu,D.R.和Schultz,P.G.(1999)Progress toward the evolution of an organism with an expanded genetic code.PNAS United States 96:4780-4785。尽管由各种测定能容易地分析摄取,但设计适用于细胞摄取途径的非天然氨基酸的替代方案是提供生物合成途径以在体内产生氨基酸。

[0431] 非天然氨基酸的生物合成

[0432] 细胞中已存在多种用于产生氨基酸及其他化合物的生物合成途径。尽管自然界中(包括但不限于细胞中)可能不存在特定的非天然氨基酸的生物合成方法,但本发明提供此类方法。例如,可以通过添加新酶或修饰现有的宿主细胞途径而任选地在宿主细胞中产生用于非天然氨基酸的生物合成途径。额外的新酶任选地是天然存在的酶或人工形成的酶。例如,对氨基苯丙氨酸的生物合成(如名称为“非天然氨基酸的体内并入(In vivo incorporation of unnatural amino acids)”的WO 2002/085923中的实例所示)依赖于添加来自其他生物体的已知酶组合。可通过用包含基因的质粒转化细胞将这些酶的基因引入至真核细胞中。当基因在细胞中表达时,其提供一种合成所需化合物的酶促途径。如下实施例中提供了任选地添加的酶的类型的实例。额外的酶序列见于例如GenBank中。同样任选地以相同方式将人工形成的酶添加至细胞中。以此方式,操控细胞机制和细胞资源以生产非天然氨基酸。

[0433] 多种用于产生用于生物合成途径或用于现有途径的演化的新酶的方法是可获得的。例如,递归重组(包括但不限于由Maxygen,Inc.开发的(可在万维网(World Wide Web)上于maxygen.com获得))可任选地用于开发新的酶和途径。参见例如Stemmer(1994),Rapid evolution of a protein in vitro by DNA shuffling,Nature 370(4):389-391;和Stemmer,(1994),DNA shuffling by random fragmentation and reassembly:In vitro recombination for molecular evolution,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.,91:10747-10751。

类似地,由Genencor开发的DesignPath™(可在万维网上于genencor.com获得)可用于进行代谢途径工程化,包括但不限于工程改造出在细胞中产生O-甲基-L-酪氨酸的途径。此技术使用新基因(包括但不限于经由功能性基因组学及分子进化和设计所鉴定的那些基因)的组合在宿主生物体中改造现存途径。Diversa Corporation(可在万维网上于diversa.com获得)还提供快速筛选基因文库及基因途径(包括但不限于产生新途径)的技术。

[0434] 通常,产生用本发明的工程化的生物合成途径产生的非天然氨基酸,其处于对于有效蛋白生物合成足够的浓度(包括但不限于天然细胞量),但未达到影响其他氨基酸的浓度或耗尽细胞资源的程度。以此方式体内产生的典型浓度是约10mM至约0.05mM。在用包含用于产生特异性途径所需的酶的基因的质粒转化细胞并且产生非天然氨基酸之后,任选地使用体内选择以针对核糖体蛋白合成与细胞生长二者进一步优化非天然氨基酸的生产。

[0435] V.体内产生包含非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21

[0436] 本发明的修饰的FGF-21多肽可使用修饰的tRNA和tRNA合成酶添加至或取代天然存在的系统中不编码的氨基酸来体内产生。此类方法描述于美国专利No.8,012,931中,其通过提述以其整体并入本文。

[0437] 使用天然存在的系统中不编码的氨基酸产生tRNA及tRNA合成酶的方法描述于例如美国专利No.7,045,337和第7,083,970,通过提述并入本文。这些方法涉及产生一种翻译机制,该翻译机制不依赖于翻译系统内源性合成酶及tRNA而起作用(且因此有时称为“正交”)。通常,翻译系统包含正交tRNA(O-tRNA)及正交氨基酰基tRNA合成酶(O-RS)。O-RS通常优选地使翻译系统中具有至少一个非天然存在的氨基酸的O-tRNA氨酰化,且O-tRNA识别至少一个并非经该系统中的其他tRNA识别的选择密码子。翻译系统因此响应于编码的选择密码子将非天然编码的氨基酸插入至系统中生产的蛋白中,由此将氨基酸“取代”至编码的多肽中的位置。

[0438] O-tRNA/氨酰基-tRNA合成酶的使用涉及编码非天然编码的氨基酸的特异性密码子的选择。尽管可使用任何密码子,但通常需要选择极少或从未用于表达O-tRNA/氨酰基-tRNA合成酶的细胞中的密码子。例如,例示性密码子包括无义密码子,如终止密码子(琥珀、赭石及乳白)、四个或更多个碱基的密码子及其他极少或未使用的天然三碱基密码子。

[0439] 可使用本领域中已知的诱变方法(包括但不限于定点诱变、盒式诱变、限制选择诱变等)将特异性选择密码子引入至修饰的FGF-21多核苷酸编码序列中的适当位置。

[0440] VI.修饰的FGF-21多肽中非天然编码的氨基酸的位置

[0441] 本发明涵盖将一个或多个非天然编码的氨基酸并入至修饰的FGF-21多肽中。一个或多个非天然编码的氨基酸可并入不破坏多肽活性的特定位置。此作用可通过进行“保守”取代来实现,包括但不限于用疏水性氨基酸取代疏水性氨基酸、用大型氨基酸取代大型氨基酸、用亲水性氨基酸取代亲水性氨基酸和/或将非天然存在的氨基酸插入非活性所需的位置。

[0442] 在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽包含一个或多个位于不破坏多肽结构的蛋白的区域中的非天然存在的氨基酸。

[0443] 在一些实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽中的氨基酸序列可包含至少一个非天然编码的氨基酸。所示至少一个非天然编码的氨基酸可并入氨基酸序列中的任何位置中,包括对应与SEQ ID NO:1的氨基酸1-181对应的位置或其中位置1之前(即在N末端)或

位置182(即在蛋白的羧基端),或SEQ ID NO:2-7或本发明的另一修饰的FGF-21多肽中的对应氨基酸。在一些实施方案中,所示至少一个非天然编码的氨基酸可位于与SEQ ID NO:1的氨基酸10、36、52、117、126、131、135、146、162、87、77、83、72、69、79、91、96、108或110对应的位置。在一些实施方案中,所示至少一个非天然编码的氨基酸可位于与SEQ ID NO:1的氨基酸72、77、86、87、91、108、110、126、131或146对应的位置。在一些实施方案中,所示至少一个非天然存在的氨基酸可位于与SEQ ID NO:1中的氨基酸108对应的位置。在一些实施方案中,所示至少一个非天然编码的氨基酸可为苯丙氨酸衍生物。在一些实施方案中,与SEQ ID NO:1的氨基酸108对应的位置可为苯丙氨酸衍生物。在一些实施方案中,所示至少一个非天然编码的氨基酸可为对乙酰基-L-苯丙氨酸。在一些实施方案中,与SEQ ID NO:1的氨基酸108对应的位置可为对乙酰基-L-苯丙氨酸衍生物。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的91位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的131位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的108位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的77位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的72位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的87位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的86位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的126位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的110位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的83位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的146位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的135位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的96位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。在一个实施方案中,非天然存在的氨基酸位于FGF-21中的36位置(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。

[0444] 在另一个实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽中的氨基酸序列可包含与SEQ ID NO:1的氨基酸108对应的位置处的非天然编码的氨基酸,及至少一个如下位置处的其他非天然编码的氨基酸:与来自SEQ ID NO:1的氨基酸1-181中的任何另一项对应的位置或与其中位置1之前(即在N末端)或位置182(即在蛋白的羧基端)对应的位置,或SEQ ID NO:2-7或本发明的另一修饰的FGF-21多肽中的对应氨基酸。在另一个实施方案中,至少一个其他非天然编码的氨基酸可位于与SEQ ID NO:1的氨基酸10、36、52、117、126、131、135、146、162、87、77、83、72、69、79、91、96、108或110对应的位置。在另一个实施方案中,至少一个其他非天然编码的氨基酸可位于与SEQ ID NO:1的氨基酸91或131对应的位置。

[0445] 在另一个实施方案中,在91处存在一个非天然存在的氨基酸且在如下位置的一项或多项处存在一个或多个其他非天然存在的氨基酸:与来自SEQ ID NO:1的氨基酸1-181中的任何另一项对应的位置或与其中位置1之前(即在N末端)或位置182(即在蛋白的羧基端)

对应的位置,或SEQ ID NO:2-7或本发明的另一修饰的FGF-21多肽中的对应氨基酸。在另一个实施方案中,在91处存在一个非天然存在的氨基酸且在如下位置的一项或多项处存在一个或多个其他非天然存在的氨基酸:131、108、77、72、87、86、126、110、83、146、135、96和36(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。

[0446] 在另一个实施方案中,在131处存在一个非天然存在的氨基酸且在如下位置的一项或多项处存在一个或多个其他非天然存在的氨基酸:与来自SEQ ID NO:1的氨基酸1-181中的任何另一项对应的位置或与其中位置1之前(即在N末端)或位置182(即在蛋白的羧基端)对应的位置,或SEQ ID NO:2-7或本发明的另一修饰的FGF-21多肽中的对应氨基酸。在另一个实施方案中,在131处存在一个非天然存在的氨基酸且在如下位置的一项或多项处存在一个或多个其他非天然存在的氨基酸:131、108、77、72、87、86、126、110、83、146、135、96和36(与SEQ ID NO:1对应的氨基酸位置或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。

[0447] 在另一个实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽中的氨基酸序列可包含与SEQ ID NO:1的残基对应的位置108处的非天然编码的氨基酸和至少两个位于与SEQ ID NO:1的如下氨基酸的至少两项对应的位置处的其他非天然编码的氨基酸:与来自SEQ ID NO:1氨基酸1-181中的任何另一项对应的位置或与其中位置1之前(即在N末端)或位置182(即在蛋白的羧基端)对应的位置,或SEQ ID NO:2-7或本发明的另一修饰的FGF-21多肽中的对应氨基酸。在另一个实施方案中,本文所述的修饰的FGF-21多肽中的氨基酸序列可包含与SEQ ID NO:1的氨基酸108对应的位置处的非天然编码的氨基酸及至少两个位于与SEQ ID NO:1的如下氨基酸的至少两项对应的位置处的其他非天然存在的氨基酸:SEQ ID NO:1的10、36、52、117、126、131、135、146、162、87、77、83、72、69、79、91、96、108或110。

[0448] 在另一个实施方案中,在77处存在一个非天然存在的氨基酸且在如下位置的一项或多项处存在一个其他非天然存在的氨基酸:与来自SEQ ID NO:1的氨基酸1-181中的任何另一项对应的位置或与其中位置1之前(即在N末端)或位置182(即在蛋白的羧基端)对应的位置,或SEQ ID NO:2-7或本发明的另一修饰的FGF-21多肽中的对应氨基酸。在另一个实施方案中,在77处存在一个非天然存在的氨基酸且在如下位置的一项或多项处存在一个或多个其他非天然存在的氨基酸:131、108、77、72、87、86、126、110、83、146、135、96和36(SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2-7的对应氨基酸)。

[0449] VII.非真核生物和真核生物中的表达

[0450] I.表达系统、培养及分离

[0451] 未修饰的或修饰的FGF-21多肽可在许多适合表达系统中表达,包括例如酵母、昆虫细胞、哺乳动物细胞和细菌。下文中提供例示性表达系统的描述。

[0452] 酵母:如本文所用,术语“酵母”包括能够表达编码修饰的FGF-21多肽的基因的各种酵母中的任一种。

[0453] 特别感兴趣的用于本发明的是毕赤酵母属(Pichia)、克鲁维酵母属(Kluyveromyces)、酵母属(Saccharomyces)、裂殖酵母属(Schizosaccharomyces)、汉逊酵母属(Hansenula)、球拟酵母属(Torulopsis)和念珠菌属(Candida)中的物种,包括但不限于巴斯德毕赤酵母(P.pastoris)、季也蒙毕赤酵母(P.guillerimondii)、酿酒酵母(S.cerevisiae)、卡尔酵母(S.carlsbergensis)、糖化酵母(S.diastaticus)、道格拉氏酵母(S.douglasii)、克鲁弗酵母(S.kluyveri)、诺地酵母(S.norbensis)、卵形酵母

(S.oviformis)、乳酸克鲁维酵母(K.lactis)、脆壁克鲁维酵母(K.fragilis)、白色念珠菌(C.albicans)、麦芽糖念珠菌(C.maltosa)和多形汉逊酵母(H.polymorpha)。WO 2005/091944(其通过提述并入本文)描述了FGF-21在酵母中的表达。

[0454] 感染杆状病毒的昆虫细胞:术语“昆虫宿主”或“昆虫宿主细胞”是指可用作或已用作重组载体或其他转运DNA的受体的昆虫。该术语包括已转染的原始昆虫宿主细胞的子代。应了解,单一亲本细胞的子代在形态上或基因组或总DNA互补物上与原始亲本可不一定完全相同,这是由于偶然或故意突变所致。与亲本充分类似且特征在于相关特性(如存在编码修饰的FGF-21多肽的核苷酸序列)的亲本细胞的子代包括于此定义涵盖的子代中。

[0455] 大肠杆菌、假单胞菌物种及其他原核生物:

[0456] 术语“细菌宿主”或“细菌宿主细胞”是指可用作或已用作重组载体或其他转运DNA的受体的细菌。该术语包括已经转染的原始细菌宿主细胞的子代。应了解,单一亲本细胞的子代在形态上或基因组或总DNA互补物上与原始亲本可不一定完全相同,这是由于偶然或故意突变所致。与亲本充分类似且特征在于相关特性(如存在编码未修饰的或修饰的FGF-21多肽的核苷酸序列)的亲本细胞的子代包括于此定义涵盖的子代中。

[0457] 在选择用于表达的细菌宿主时,合适的宿主可包括显示具有尤其良好的包涵体形成能力、低蛋白水解活性及整体稳健性的宿主。工业/制药发酵通常使用衍生自K菌株(例如W3110)或来自衍生自B菌株(例如BL21)的细菌的细菌。适合大肠杆菌宿主的其他实例包括但不限于BL21、DH10B或其衍生物的菌株。在本发明方法的另一个实施方案中,大肠杆菌宿主是缺乏蛋白酶的菌株(protease minus strain),包括但不限于OMP-和LON-。宿主细胞菌株可为假单胞菌菌种,包括但不限于荧光假单胞菌(Pseudomonas fluorescens)、铜绿假单胞菌(Pseudomonas aeruginosa)和恶臭假单胞菌(Pseudomonas putida)。已知称为菌株MB101的荧光假单胞菌生物变种1(Pseudomonas fluorescens biovar 1)适用于重组产生且可用于治疗性蛋白生产方法。

[0458] 在形成重组宿主细胞菌株后(即将表达构建体引入至宿主细胞中并分离具有适当表达构建体的宿主细胞),在适于产生修饰的FGF-21多肽的条件下培养重组宿主细胞菌株。

[0459] 重组宿主细胞可以分批或连续模式培养,其中细胞收获(在其中修饰的FGF-21多肽积聚于细胞内的情况下)或收获培养物上清液是分批或连续模式的。

[0460] 在细菌宿主细胞中产生的修饰的FGF-21多肽可为难溶的或不溶的(呈包涵体形式)。在本发明的一个实施方案中,在出于增加重组生产的蛋白的溶解度的目的而选择的修饰的FGF-21多肽中可容易进行氨基酸取代。修饰的FGF-21多肽可例如用尿素或盐酸胍溶解。

[0461] 在可溶性修饰的FGF-21的情况下,FGF-21可分泌至周质间隙或培养基中。例如,通过如下使修饰的FGF-21分泌至W3110-B2细胞的周质间隙中:使用包括八个不同前导序列(包括SEQ ID NO:39-44中所列举的那些前导序列)的编码构建体的质粒,和使这些质粒转化至W3110-B2细胞中,所述W3110-B2细胞接着在37℃生长直至OD达到约0.8,此时用0.01%阿拉伯糖诱导表达。五小时后可从培养物制得周质释放样品。此外,可溶性修饰的FGF-21可存在于宿主细胞的细胞质中。可能需要在进行纯化步骤之前浓缩可溶性修饰的FGF-21。

[0462] 当FGF-21多肽作为融合蛋白产生时,可去除融合序列。融合序列的去除可通过酶促或化学裂解实现。融合序列的酶促去除可使用本领域普通技术人员已知的方法来完成。

用于去除融合序列的酶的选择可通过融合的性质确定,且如本领域普通技术人员所知的,反应条件可通过酶的选择而指定。化学裂解可使用本领域普通技术人员已知的试剂来实现,包括但不限于溴化氰、TEV蛋白酶及其他试剂。裂解的修饰的FGF-21多肽可通过本领域普通技术人员已知的方法从裂解的融合序列纯化而得。

[0463] 一般地,偶尔需要对表达的多肽进行变性和还原,然后致使多肽再折叠成优选的构象。例如,可将胍、脲、DTT、DTE和/或伴侣蛋白添加至感兴趣的翻译产物中。蛋白可在含有(包括但不限于)氧化谷胱甘肽和L-精氨酸的氧化还原缓冲液中再折叠。再折叠试剂可流动或是移动以与一种或多种多肽或其他表达产物接触,反之亦然。

[0464] 在修饰的FGF-21多肽的原核生产的情况下,由此产生的修饰的FGF-21多肽可以是错误折叠的,从而缺乏生物活性或生物活性降低。蛋白的生物活性可通过“再折叠”恢复。一般地,错误折叠的未修饰的或修饰的FGF-21多肽通过使用例如一种或多种离液剂(例如脲和/或胍)和能够还原二硫键的还原剂(例如二硫苏糖醇、DTT或2-巯基乙醇,2-ME)溶解(其中修饰的FGF-21多肽也是不可溶的)、解折叠和还原多肽链而得以再折叠。在中等浓度的离液剂下,接着添加氧化剂(例如氧、胱氨酸或胱胺),其允许再形成二硫键。修饰的FGF-21多肽可使用本领域中已知的标准方法再折叠,如美国专利No.4,511,502、4,511,503和4,512,922中所述的那些标准方法,其通过提述并入本文。修饰的FGF-21多肽还可与其他蛋白共折叠以形成异二聚体或异多聚体。

[0465] 在再折叠之后,可进一步纯化修饰的FGF-21。修饰的FGF-21的纯化可使用本领域普通技术人员已知的多种技术实现,包括疏水相互作用色谱、大小排阻色谱、离子交换色谱、逆相高效液相色谱、亲和色谱及等等或其任何组合。其他纯化还可包括干燥或沉淀纯化蛋白的步骤。

[0466] 在纯化之后,可将修饰的FGF-21交换至不同缓冲剂中和/或通过多种本领域已知的方法的任一种浓缩,包括但不限于透滤和渗析。以单一纯化蛋白的形式提供的修饰的FGF-21可经历聚集和沉淀。

[0467] 纯化的修饰的FGF-21可以是至少90%纯的(如通过逆相高效液相色谱、RP-HPLC或十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳,SDS-PAGE所测量的)或至少95%纯的、或至少98%纯的、或至少99%纯的或更纯的。无论修饰的FGF-21的纯度的精确数值如何,修饰的FGF-21的纯度足以用作药物产品或用于进一步加工,如与水溶性聚合物(如PEG)缀合。

[0468] 在不存在其他活性成分或蛋白(除赋形剂、载剂及稳定剂、血清白蛋白等以外)的情况下,一些修饰的FGF-21分子可用作治疗剂,或其可与另一蛋白或聚合物复合。

[0469] 在本发明的一些实施方案中,在各纯化步骤之后修饰的FGF-21的产率可为用于各纯化步骤的起始物质中的未经修饰或修饰的FGF-21的至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.9%、或至少约99.99%。

[0470] VIII.替代系统中的表达

[0471] 本发明的修饰的FGF-21多肽可使用无细胞(例如体外)翻译系统来表达。翻译系统可以是细胞的或无细胞且可以是原核或真核的。细胞翻译系统包括但不限于全细胞制备

物,如经透化细胞(permeabilized cell)或细胞培养物,其中所需核酸序列可转录为mRNA并翻译mRNA。无细胞翻译系统是商业上可获得的且多种不同类型和系统是熟知的。无细胞系统的实例包括但不限于原核裂解液,如大肠杆菌裂解液,及真核裂解液,如小麦胚芽提取物、昆虫细胞裂解液、兔网织红细胞裂解液、兔卵母细胞裂解液和人细胞裂解液。还可获得膜性提取物,如含有微粒体膜的犬胰脏提取物,其可用于翻译分泌性蛋白。

[0472] IX.与修饰的FGF-21多肽偶联的大分子聚合物

[0473] 可使用本文所述的组合物、方法、技术及策略对本文所述的非天然氨基酸多肽进行各种修饰。这些修饰包括将其他官能团并入至多肽的非天然氨基酸组分上,所述其他官能团包括但不限于标记;染料;聚合物;水溶性聚合物;聚乙二醇的衍生物;光交联剂;放射性核素;细胞毒性化合物;药物;亲和力标记;光亲和力标记;反应性化合物;树脂;第二蛋白或多肽或多肽类似物;抗体或抗体片段;金属螯合剂;辅因子;脂肪酸;糖类;多核苷酸;DNA;RNA;反义多核苷酸;糖;水溶性树状聚合物;环糊精;抑制性核糖核酸;生物材料;纳米粒子;自旋标记;荧光团;含金属的部分;放射性部分;新官能团;与其他分子共价或非共价相互作用的基团;光笼化部分;光化辐射可激发的部分;可光致异构化部分;生物素;生物素衍生物;生物素类似物;并入有重原子的部分;可化学裂解的基团;可光裂解的基团;延长的侧链;碳连接的糖;氧化还原活性剂;氨基硫代酸;毒性部分;经同位素标记的部分;生物物理探针;磷光基团;化学发光基团;电子致密基团;磁性基团;插入基团;发色团;能量转移剂;生物活性剂;可检测标记;小分子;量子点;纳米传递素;放射性核苷酸;放射性传递素;中子收获剂;或上述物质的任何组合,或任何其他所需的化合物或物质。作为本文所述的组合物、方法、技术及策略的一个说明性非限制性实例,如下描述将集中于将大分子聚合物添加(adding)至非天然氨基酸多肽上,同时理解其描述的组合物、方法、技术及策略(必要时具有适当修改且本领域普通技术人员可用本文公开内容进行所述修改)还可适用于添加其他官能团,包括但不限于上文所列的那些官能团。

[0474] 多种大分子聚合物及其他分子可连接至本发明的修饰的FGF-21多肽以调节修饰的FGF-21多肽的生物特性和/或为修饰的FGF-21分子提供新的生物特性。这些大分子聚合物可经由天然编码的氨基酸、经由非天然编码的氨基酸或天然或非天然氨基酸的任何官能取代基或添加至天然或非天然氨基酸中的任何取代基或官能团连接至修饰的FGF-21多肽。聚合物分子量可在包括但不限于约100Da至约100,000Da或更大的广泛范围。聚合物的分子量可为约100Da至约100,000Da,包括但不限于100,000Da、95,000Da、90,000Da、85,000Da、80,000Da、75,000Da、70,000Da、65,000Da、60,000Da、55,000Da、50,000Da、45,000Da、40,000Da、35,000Da、30,000Da、25,000Da、20,000Da、15,000Da、10,000Da、9,000Da、8,000Da、7,000Da、6,000Da、5,000Da、4,000Da、3,000Da、2,000Da、1,000Da、900Da、800Da、700Da、600Da、500Da、400Da、300Da、200Da和100Da。在一些实施方案中,聚合物的分子量是约100Da至约50,000Da。在一些实施方案中,聚合物的分子量是约100Da至约40,000Da。在一些实施方案中,聚合物的分子量是约1,000Da至约40,000Da。在一些实施方案中,聚合物的分子量是约5,000Da至约40,000Da。在一些实施方案中,聚合物的分子量是约10,000Da至约40,000Da。

[0475] 所选聚合物可为水溶性的,以使得其附接的蛋白在水性环境(如生理环境)中不沉淀。聚合物可为分支或无分支的。对于成品制备物的治疗用途而言,聚合物可为药学上可接

受的。

[0476] 聚合物的实例包括但不限于聚烷基醚及其烷氧基封端类似物(例如聚氧乙烯二醇、聚氧乙烯/丙二醇及其甲氧基或乙氧基封端类似物,尤其是聚氧乙烯二醇,后者也称为聚乙二醇或PEG);离散PEG(dPEG);聚乙烯吡咯啶酮;聚乙烯基烷基醚;聚恶唑啉、聚烷基恶唑啉及聚羟烷基恶唑啉;聚丙烯酰胺、聚烷基丙烯酰胺及聚羟烷基丙烯酰胺(例如聚羟丙基甲基丙烯酰胺及其衍生物);聚羟烷基丙烯酸酯;聚唾液酸及其类似物;亲水性肽序列;多糖及其衍生物,包括右旋糖酐及右旋糖酐衍生物,例如羧基甲基右旋糖酐、硫酸右旋糖酐、氨基右旋糖酐;纤维素及其衍生物,例如羧甲基纤维素、羟烷基纤维素;甲壳素及其衍生物,例如壳聚糖、琥珀酰壳聚糖、羧甲基甲壳素、羧甲基壳聚糖;透明质酸及其衍生物;淀粉;海藻酸盐;硫酸软骨素;白蛋白;支链淀粉(pullulan)及羧甲基支链淀粉;聚氨基酸及其衍生物,例如聚谷氨酸、聚赖氨酸、聚天冬氨酸、聚天冬酰胺;顺丁烯二酸酐共聚物,如:苯乙烯顺丁烯二酸酐共聚物、二乙烯基乙基醚顺丁烯二酸酐共聚物;聚乙烯醇;其共聚物;其三元共聚物;其混合物;及前述各项的衍生物。

[0477] 如本文所用且在考虑PEG:修饰的FGF-21多肽缀合物时,术语“治疗有效量”是指向患者提供所需益处的量。量可在个体之间变化且可依赖于多种因素,所述因素包括患者总体身体状况和要治疗的病况的基本病因。用于治疗的修饰的FGF-21多肽的量提供可接受的变化率且使所需反应维持在有利程度。

[0478] 水溶性聚合物可以是任何结构形式,包括但不限于线性、叉状或分支形。通常,水溶性聚合物是聚(烷撑二醇),如聚(乙二醇)(PEG),但还可使用其他水溶性聚合物。例如,用PEG来描述本发明的一些实施方案。

[0479] 术语“PEG”广泛用于涵盖任何聚乙二醇分子,而不考虑PEG的大小或末端的修饰,且在连接至修饰的FGF-21多肽时可由下式表示:

[0480] $XO-(CH_2CH_2O)_n-CH_2CH_2-Y$

[0481] 其中n是2至10,000,且X是H或末端修饰,包括但不限于C_{1-4}烷基、保护基团或末端官能团。

[0482] 在一些情况下用于本发明多肽的PEG在一个末端终止于羟基或甲氧基,即X为H或CH_3(“甲氧基PEG”)。或者,PEG可终止于反应性基团,由此形成双功能聚合物。典型的反应性基团可包括常用于和见于20种常见氨基酸中的官能团(包括但不限于马来酰亚胺基团、活化的碳酸酯(包括但不限于对硝基苯酯)、活化的酯类(包括但不限于N-羟基琥珀酰亚胺、对硝基苯酯)和醛)以及对所述20种常见氨基酸呈惰性但与存在于非天然编码的氨基酸中的互补官能团特异性反应的官能团(包括但不限于叠氮基、炔基)反应的那些反应性基团。应注意,上式中由Y所示的PEG的另一末端可经由天然存在或非天然编码的氨基酸直接或间接连接至修饰的FGF-21多肽。例如,Y可为与多肽的胺基(包括但不限于赖氨酸的ε胺或N端)相连的酰胺、氨基甲酸酯或脲连接基。或者,Y可为与硫醇基(包括但不限于半胱氨酸的硫醇基)的马来酰亚胺连接基。或者,Y可为与通常不可经由20种常见氨基酸获得的残基的连接基。例如,PEG上的叠氮基可与修饰的FGF-21多肽上的炔基反应以形成Huisgen[3+2]环加成产物。或者,PEG上的炔基可与非天然编码的氨基酸中存在的叠氮基反应以形成类似产物。在一些实施方案中,强亲核试剂(包括但不限于肼、酰肼、羟胺、氨基脲)可与非天然编码的氨基酸中存在的醛或酮基反应以形成腙、肟或缩氨基脲,(若适用的话)其在一些情况下可

通过用适当还原剂处理而进一步还原。或者,强亲核试剂可经由非天然编码的氨基酸并入至修饰的FGF-21多肽中,并优选地用于与水溶性聚合物中存在的酮或醛基反应。

[0483] 可视实际需要使用任何分子量的PEG,包括但不限于约100道尔顿(Da)至100,000Da,或视需要更大(包括但不限于,有时为0.1-50kDa或10-40kDa)。PEG的分子量可在包括但不限于约100Da至约100,000Da或更大的广泛范围。PEG可为约100Da至约100,000Da,包括但不限于100,000Da、95,000Da、90,000Da、85,000Da、80,000Da、75,000Da、70,000Da、65,000Da、60,000Da、55,000Da、50,000Da、45,000Da、40,000Da、35,000Da、30,000Da、25,000Da、20,000Da、15,000Da、10,000Da、9,000Da、8,000Da、7,000Da、6,000Da、5,000Da、4,000Da、3,000Da、2,000Da、1,000Da、900Da、800Da、700Da、600Da、500Da、400Da、300Da、200Da、和100Da。还可使用分支PEG,包括但不限于各链的MW范围为1-100kDa(包括但不限于1-50kDa或5-20kDa)的PEG分子。分支PEG的各链的分子量可为包括但不限于约1,000Da至约100,000Da或更大。分支PEG的各链的分子量可为约1,000Da至约100,000Da,包括但不限于100,000Da、95,000Da、90,000Da、85,000Da、80,000Da、75,000Da、70,000Da、65,000Da、60,000Da、55,000Da、50,000Da、45,000Da、40,000Da、35,000Da、30,000Da、25,000Da、20,000Da、15,000Da、10,000Da、9,000Da、8,000Da、7,000Da、6,000Da、5,000Da、4,000Da、3,000Da、2,000Da和1,000Da。一般地,PEG分子的至少一端可用于与非天然编码的氨基酸反应。例如,用于与氨基酸侧链反应的带有炔烃和叠氮部分PEG衍生物可用于将PEG与如本文所述的非天然编码的氨基酸连接。如果非天然编码的氨基酸包含叠氮部分,则PEG通常可含有炔烃部分以形成[3+2]环加成产物,或含膦基团的活化的PEG物质(即酯、碳酸酯)以形成酰胺键。或者,如果非天然编码的氨基酸包含炔烃,则PEG通常可含有叠氮部分以形成[3+2]Huisgen环加成产物。如果非天然编码的氨基酸包含羰基,则PEG通常可分别包含强效亲核试剂(包括但不限于酰肼、肼、羟胺或氨基脲官能团)以形成对应的腙、肟和缩氨基脲连接基。在其他替代方案中,可使用上述反应性基团的反向取向,即非天然编码的氨基酸中的叠氮部分可与含有炔烃的PEG衍生物反应。

[0484] 在一些实施方案中,具有PEG衍生物的修饰的FGF-21多肽含有化学官能团,所述化学官能团是与非天然编码的氨基酸侧链上存在的化学官能团的反应性。

[0485] 在一些实施方案中,本发明提供含叠氮和含乙炔的聚合物衍生物,其包含平均分子量为约800Da至约100,000Da的水溶性聚合物主链。水溶性聚合物的聚合物主链可为聚(乙二醇)。然而,应了解,多种水溶性聚合物(包括但不限于聚(乙烯)乙二醇)及其他相关聚合物,包括聚(聚右旋糖酐)和聚(丙二醇),也适用于本发明公开的多肽,且使用术语PEG或聚(乙二醇)意在涵盖且包括所有此类分子。

[0486] 聚合物主链可为直链或分支的。分支聚合物主链通常是本领域已知的。通常,分支聚合物具有中心分支核心部分和多个连接至该中心分支核心的直链聚合物链。分支PEG还可表现为由PEG(--$YCHZ_2$)$_n$表示的分叉PEG形式,其中Y是连接基基团且Z是由限定长度的原子链连接至CH的活化末端基团。另一分支形式,悬垂PEG(pendant PEG),沿PEG主链而非在PEG链末端具有反应性基团,如羧基。

[0487] 多种其他聚合物也适用于本发明的多肽。适合的聚合物的实例包括但不限于其他聚(烷撑二醇),如聚(丙二醇)("PPG")、其共聚物(包括但不限于乙二醇和丙二醇的共聚物)、其三元共聚物、其混合物及其类似物。尽管聚合物主链的各链的分子量可有变化,但其

通常范围为约800Da至约100,000Da,通常为约6,000Da至约80,000Da。聚合物主链的各链的分子量可为约100Da至约100,000Da,包括但不限于100,000Da、95,000Da、90,000Da、85,000Da、80,000Da、75,000Da、70,000Da、65,000Da、60,000Da、55,000Da、50,000Da、45,000Da、40,000Da、35,000Da、30,000Da、25,000Da、20,000Da、15,000Da、10,000Da、9,000Da、8,000Da、7,000Da、6,000Da、5,000Da、4,000Da、3,000Da、2,000Da、1,000Da、900Da、800Da、700Da、600Da、500Da、400Da、300Da、200Da和100Da。

[0488] 水溶性聚合物可与本发明的修饰的FGF-21多肽连接。水溶性聚合物可经由并入修饰的FGF-21多肽中的非天然编码的氨基酸、或非天然编码或天然编码的氨基酸的任何官能团或取代基,或添加至非天然编码或天然编码的氨基酸中任何官能团或取代基而连接。或者,水溶性聚合物经由天然存在的氨基酸(包括但不限于半胱氨酸、赖氨酸或N末端残基的氨基)连接至包含非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽。在一些情况下,本发明的修饰的FGF-21多肽包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个非天然氨基酸,其中一个或多个非天然编码的氨基酸连接至水溶性聚合物(包括但不限于PEG和/或寡糖)。在一些情况下,本发明的修饰的FGF-21多肽进一步包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个连接至水溶性聚合物的天然编码的氨基酸。在一些情况下,本发明本发明修饰的FGF-21多肽包含一个或多个连接至水溶性聚合物的非天然编码的氨基酸和一个或多个连接至水溶性聚合物的天然存在的氨基酸。在一些实施方案中,相对于比较剂化合物,如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:201的FGF-21多肽、无所述水溶性聚合物的相同FGF-21多肽或本文中其他地方所述的另一比较剂化合物,用于本发明的水溶性聚合物增强修饰的FGF-21多肽的血清半衰期。

[0489] 可调节连接至本发明的修饰的FGF-21多肽的水溶性聚合物的数量(即聚乙二醇化或糖基化程度)以提供改变(包括但不限于增加或降低)的药理学、药代动力学或药效学特征如体内半衰期。在一些实施方案中,相对于未修饰的多肽,修饰的FGF-21的半衰期增加至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、2倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、11倍、12倍、13倍、14倍、15倍、16倍、17倍、18倍、19倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、50倍或至少约100倍。

[0490] 含有强亲核基团(即酰肼、肼、羟胺或氨基脲)的PEG衍生物

[0491] 在本发明的一个实施方案中,包含含羰基的非天然编码的氨基酸的本发明修饰的FGF-21多肽可由含有直接连接至PEG主链的末端肼、羟胺、酰肼或氨基脲部分的PEG衍生物修饰。

[0492] 水溶性聚合物连接至修饰的FGF-21多肽的程度和位点可调节修饰的FGF-21多肽与FGF-21多肽受体的结合。在一些实施方案中,如由平衡结合测定(如Spencer等,J.Biol.Chem.,263:7862-7867(1988)中关于修饰的FGF-21所述的测定)所测量的,可排列连接基以使得修饰的FGF-21多肽与FGF-21多肽受体结合的K_d为约400nM或更低,K_d为150nM或更低,且在一些情况下,K_d为100nM或更低。

[0493] 用于活化聚合物以及用于缀合肽的方法及化学作用描述于文献中且是本领域已知的。常用于活化聚合物的方法包括但不限于用溴化氰、过碘酸盐、戊二醛、二环氧化物、表氯醇、二乙烯砜、碳化二亚胺、磺酰卤、三氯三嗪等活化官能团。含有非天然编码的氨基酸(如对叠氮基-L-苯丙氨酸)的修饰的FGF-21多肽的聚乙二醇化(即添加任何水溶性聚合物)可通过任何适合的方法进行,如美国专利No.8,012,931中所述的那些方法,其通过提述并

入本文。连接至本发明的修饰的FGF-21多肽的氨基酸的水溶性聚合物可不受限地进一步加以衍生化或取代。

[0494] 在本发明的另一个实施方案中,修饰的FGF-21多肽可由含有叠氮部分的PEG衍生物修饰,所述叠氮部分可与非天然编码的氨基酸的侧链上存在的炔烃部分反应。一般地,PEG衍生物的平均分子量范围可为1-100kDa,且在一些实施方案中,为10-40kDa。

[0495] 在一些实施方案中,叠氮端PEG衍生物可具有如下结构:

[0496] $RO-(CH_2CH_2O)_n-O-(CH_2)_m-N_3$

[0497] 其中R是简单烷基(甲基、乙基、丙基等),m是2-10且n是100-1,000(即平均分子量为5-40kDa)。

[0498] 在另一个实施方案中,叠氮端PEG衍生物可具有如下结构:

[0499] $RO-(CH_2CH_2O)_n-O-(CH_2)_m-NH-C(O)-(CH_2)_p-N_3$

[0500] 其中R是简单烷基(甲基、乙基、丙基等),m是2-10,p是2-10且n是100-1,000(即平均分子量为5-40kDa)。

[0501] 在本发明的另一个实施方案中,包含含炔烃氨基酸的修饰的FGF-21多肽可由含有叠氮末端部分的分支PEG衍生物进一步修饰,其中所述分支PEG的各链的MW范围为10-40kDa且可为5-20kDa。例如,在一些实施方案中,叠氮末端PEG衍生物可具有如下结构:

[0502] $[RO-(CH_2CH_2O)_n-O-(CH_2)_2-NH-C(O)]_2CH(CH_2)_m-X-(CH_2)_pN_3$

[0503] 其中R是简单烷基(甲基、乙基、丙基等),m是2-10,p是2-10且n是100-1,000且X任选地是O、N、S或羰基(C=O),在各情况下其可存在或不存在。

[0504] 在本发明的另一个实施方案中,修饰的FGF-21多肽可由含有炔烃部分的PEG衍生物修饰,该炔烃部分可与非天然编码的氨基酸的侧链上存在的叠氮部分反应。

[0505] 在本发明的另一个实施方案中,修饰的FGF-21多肽可由含有进一步包含芳基膦基团的活化官能团(包括但不限于酯、碳酸酯)的PEG衍生物进行修饰,该芳基膦基团可与非天然编码的氨基酸的侧链上存在的叠氮部分反应。

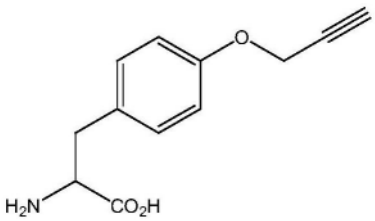
[0506] 修饰的FGF-21多肽可通过如下例示性方法缀合至含酰肼PEG。并入含羰基氨基酸(如pAcF)的修饰的FGF-21多肽可根据上述程序制备。一经修饰,具有如下结构的含酰肼的PEG即可缀合至修饰的FGF-21多肽:

[0507] $R-PEG(N)-O-(CH_2)_2-NH-C(O)(CH_2)_n-X-NH-NH_2$

[0508] 其中例如R=甲基,n=2且N=10,000MW,且X是羰基(C=O)基团。将纯化的含有对-乙酰基-苯丙氨酸的修饰的FGF-21以0.1-10mg/mL溶解于25mM MES(Sigma Chemical,St.Louis,MO)pH 6.0、25mM Hepes(Sigma Chemical,St.Louis,MO)pH 7.0或10mM乙酸钠(Sigma Chemical,St.Louis,MO)pH 4.5中,与1至100倍过量的含酰肼PEG反应,并通过添加溶解于H_2O中至最终浓度10-50mM的储液1M $NaCNBH_3$(Sigma Chemical,St.Louis,MO)来原位还原对应的腙。反应在黑暗中于4℃至室温进行18-24小时。通过添加约pH 7.6的1M Tris(Sigma Chemical,St.Louis,MO)至50mM的最终Tris浓度来终止反应,或稀释至适当缓冲液中用于立即纯化。

[0509] 将含炔烃的氨基酸引入至修饰的FGF-21多肽中并用Mpeg-叠氮基的衍生化

[0510] 可生产含有含炔烃氨基酸的修饰的FGF-21多肽且可通过如下例示性方法用mPEG-叠氮基将其衍生化。所选位置可由如下非天然编码的氨基酸取代:

[0511] 

[0512] 用于将对炔丙基-酪氨酸位点特异性并入至修饰的FGF-21中的序列可为上述的SEQ ID NO:1(FGF-21)、SEQ ID NO:16或17(muttRNA,詹氏甲烷球菌(M.jannaschii) $\mathrm{mtRNA}_{\mathrm{CUA}}^{\mathrm{Tyr}}$)、22、23或24。含有炔丙基酪氨酸的修饰的FGF-21多肽可在大肠杆菌中表达并用上述用于纯化含有含羰基氨基酸的修饰的FGF-21多肽的条件来纯化。

[0513] 纯化的含有炔丙基-酪氨酸的修饰的FGF-21以0.1-10mg/mL溶解于PB缓冲液(100mM磷酸钠、0.15M NaCl,pH=8)中并将10至1000倍过量的含叠氮PEG添加至反应混合物中。然后将催化量的$CuSO_4$和Cu丝(wire)添加至反应混合物中。在温育混合物(包括但不限于在室温或37℃约4小时,或在4℃过夜)之后,添加H_2O且经由透析膜过滤混合物。可分析样品以确定产率。

[0514] X.含有修饰的FGF-21多肽的融合蛋白

[0515] 本发明还提供修饰的FGF-21多肽或其片段,其包含修饰的FGF-21多肽序列和融合配偶体。融合配偶体可赋予功能特性,包括但不限于半衰期延长、促进蛋白纯化和/或生产、增强的生物物理特性(如增加溶解度或稳定性)及降低的免疫原性或毒性,或任何其他目的。例如,融合蛋白可表现出延长的体内半衰期,由此有助于治疗方案中的较不频繁给药(如每周给药两次、每周一次或每隔一周一次等)。例示性的融合蛋白包含融合至融合配偶体的修饰的FGF-21,所述融合配偶体如白蛋白(例如人血清白蛋白)、PK延伸(PKE)Adnectin、XTEN、Fc域或前述任一项的片段,或前述任何项的组合。融合蛋白可通过表达编码修饰的FGF-21多肽序列和相同阅读框架中的融合配偶体序列的核酸来生产,任选地通过编码连接肽的序列来分离。融合蛋白可以任何顺序包含修饰的FGF-21多肽和融合配偶体,例如一种或多种连接至修饰的FGF-21多肽序列的N末端和/或C末端的融合配偶体,或一种或多种连接至N末端和C末端两者的融合配偶体。

[0516] 融合可通过使融合配偶体附接至修饰的FGF-21多肽的任一末端(即N末端或C末端)而形成,即融合配偶体-修饰的FGF-21或修饰的FGF-21-融合配偶体排列。另外,修饰的FGF-21多肽可在两个末端融合至一种或多种任选地在任一末端或两个末端具有连接肽的融合配偶体。在一些实施方案中,融合配偶体和修饰的FGF-21经由连接肽融合。例示性的连接肽可包含选自SEQ ID NO:74-100、301和350-383或前述(例如前述序列中的两项、三项或更多项)的组合的序列或由其组成。例示性连接肽的长度可为0(即无连接肽存在)至100个更多个氨基酸,如至少1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个和多至60、50、40、30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19、18、17、16、15、14、13、12或11个氨基酸。例示性的非限制性长度的连接肽包括长度为1至100个氨基酸、1至40个氨基酸、1至20个氨基酸、1至10个氨基酸或3至5个氨基酸。

[0517] 修饰的FGF-21多肽或其片段可作为包含人血清白蛋白(HSA)或其部分的融合蛋白生产。此类融合构建体可适用于增强修饰的FGF-21或其片段在真核宿主细胞(如CHO)中或在细菌(如大肠杆菌)中的表达。例示性的HSA部分包括N末端多肽(氨基酸1-369、1-419和从

氨基酸1起始的中等长度),如美国专利No.5,766,883和PCT公开WO 97/24445中公开的那样,其通过提述并入本文。在一些实施方案中,融合蛋白可包含HSA蛋白以及修饰的FGF-21或其片段,其连接至HSA的C末端和N末端中的每一个。例示性的HSA构建体公开于美国专利No.5,876,969中,其通过提述并入本文。FGF-21的哺乳动物细胞表达的例示性方法描述于WO 2005/091944中,其通过提述并入本文。

[0518] 修饰的FGF-21多肽可融合XTEN分子。XTEN分子也称为非结构化重组聚合物、非结构化重组多肽(URP),且一般描述于Schellenberger等,Nat Biotechnol.,2009Dec;27(12):1186-90;美国公开No.2012/0220011;美国专利No.7,846,445及WO/2012/162542中,其各自通过提述以其整体并入本文。修饰的FGF-21多肽的半衰期可通过改变XTEN分子的构造(例如通过改变其尺寸)而变化。例如,可选择XTEN分子以获得所需半衰期,如范围为1至50小时,如至少1、2、5、10、12、15、20或25小时或更长。

[0519] 例示性的XTEN分子包括包含至少40个连续氨基酸的URP,其中:(a)URP包含至少三个不同类型的选自下组的氨基酸;甘氨酸(G)、天冬氨酸(D)、丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)、谷氨酸(E)和脯氨酸(P)残基,其中URP中所含的组的氨基酸的总和占URP的总氨基酸的约80%以上,且其中所述URP包含一个以上的脯氨酸残基,且其中相对于缺乏所述一个以上脯氨酸残基的对应URP,所述URP具有降低的蛋白水解降解敏感性;(b)如由Chou-Fasman算法所确定的,所述URP的至少50%的氨基酸无二级结构;且(c)所述URP的Tepitope评分小于-5。额外的例示性XTEN分子包含非结构化重组聚合物(URP),其含有至少约40个连续氨基酸,且其中(a)URP中所含的甘氨酸(G)、天冬氨酸(D)、丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)、谷氨酸(E)和脯氨酸(P)残基的总和占URP的总氨基酸的至少80%,且其余部分(若存在的话)由精氨酸或赖氨酸组成,且其余部分不含甲硫氨酸、半胱氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺,其中所述URP包含至少三个不同类型的选自如下的氨基酸:甘氨酸(G)、天冬氨酸(D)、丙氨酸(A)、丝氨酸(S)、苏氨酸(T)、谷氨酸(E)和脯氨酸(P);(b)如通过Chou-Fasman算法所确定的,所述URP中的至少40个连续氨基酸中的至少50%无二级结构;且(c)其中URP的Tepitope评分小于-4。

[0520] 额外的例示性XTEN分子包括rPEG分子。在一些实施方案中,rPEG分子可以不包括疏水性残基(例如F、I、L、M、V、W或Y)、含侧链酰胺的残基(例如N或Q)或带正电的侧链残基(例如H、K或R)。在一些实施方案中,增强部分可包括A、E、G、P、S或T。在一些实施方案中,rPEG可包括10-20%、20-30%、30-40%、40-50%、50-60%、60-70%、70-80%、80-90%、90-99%的甘氨酸或甚至100%的甘氨酸。

[0521] 所述XTEN分子可进一步连接至聚乙二醇。

[0522] 术语“PAS”和/或“PAS化”是指感兴趣的生物药物蛋白(如修饰的FGF-21多肽)与由氨基酸Pro、Ala和Ser构成的构象无序的多肽序列的遗传融合(因此为术语“PAS多肽”及“PAS化”)。PAS化可增加血清半衰期、增加溶解度、稳定性和/或对蛋白酶的抗性和/或降低感兴趣的蛋白(例如融合蛋白)的免疫原性(参考文献可见WO2008155134A1和US20140073563,其通过提述并入本文)。PAS序列可经由基因融合连接至修饰的FGF-21多肽的氨基酸序列的N末端、C末端或两个末端。在一些实施方案中,PAS多肽可包含至少两个域,所述域包含由至少约100、150、200、250、300、350、400、450、500、600、700、800、900、1000或更多个氨基酸残基组成的氨基酸序列,其形成无规卷曲构象,且其中所述第二域包含丙氨

酸、丝氨酸和脯氨酸残基,由此所述无规卷曲构象介导融合有PAS多肽的生物药物蛋白的体内和/或体外稳定性增加。在一些实施方案中,包含丙氨酸、丝氨酸和脯氨酸残基的第二域可选自ASPAAPAPASPAAPAPSAPA(SEQ ID NO:310);AAPASPAPAAPSAPAPAAPS(SEQ ID NO:311);APSSPSPSAPSSPSPASPSS(SEQ ID NO:312),SAPSSPSPSAPSSPSPASPS(SEQ ID NO:313),SSPSAPSPSSPASPSPSSPA(SEQ ID NO:314),AASPAAPSAPPAAASPAAPSAPPA(SEQ ID NO:315)和ASAAAPAAASAAASAPSAAA(SEQ ID NO:316)。PAS多肽可含有一个或多个用于共价修饰的位点。

[0523] 在例示性实施方案中,修饰的FGF-21融合至Adnectin,例如白蛋白结合或PKE Adnectin。例示性的Adnectin公开于美国公开No.2011/0305663中,其通过提述以其整体并入本文。所述Adnectin可基于第十纤连蛋白III型结构域并可结合至血清白蛋白。所述Adnectin可包含如下一项或多项:包含SEQ ID NO:45所示氨基酸序列的BC环、包含SEQ ID NO:46所示氨基酸序列的DE环和包含SEQ ID NO:47所示氨基酸序列的FG环,或包含选自SEQ ID NO:48、49、50、51和52-72的多肽,或包含与SEQ ID NO:48、49、50、51或52-72至少60%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或至少95%相同的多肽,其分别对应于与美国公开No.2011/0305663的SEQ ID NO 5、6、7、8、12、16、20和24-44。

[0524] 在一些实施方案中,修饰的FGF-21多肽可融合至免疫球蛋白Fc域("Fc域")或其片段或变体,如功能性Fc区。功能性Fc区结合至FcRn,但不具有效应物功能。Fc区或其片段结合FcRn的能力可通过本领域中已知的标准结合测定法来确定。例示性的"效应物功能"包括C1q结合;补体依赖性细胞毒性(CDC);Fc受体结合;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC);吞噬作用;细胞表面受体(例如B细胞受体;BCR)的下调等。此类效应物功能可使用本领域中已知用于评估此类抗体效应物功能的各种测定法来评估。

[0525] 在一个例示性实施方案中,Fc域来源于IgG1亚类,然而还可使用其他亚类(例如IgG2、IgG3及IgG4)。下文显示了人IgG1免疫球蛋白Fc域的例示性序列:

[0526] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:302)

[0527] 在一些实施方案中,用于融合蛋白中的Fc区可包含Fc分子的铰链区。例示性的铰链区包含跨越上文所提供的例示性人IgG1免疫球蛋白Fc域序列的位置1-16的核心铰链残基(即DKTHTCPPCPAPELLG(SEQ ID NO:303))。在一些实施方案中,融合蛋白可采用多聚体结构(例如二聚体),这部分是由于上文所提供的例示性人IgG1免疫球蛋白Fc域序列的铰链区内的位置6和9的半胱氨酸残基。在其他实施方案中,如本文所用的铰链区可进一步包括衍生自上文所提供的例示性人IgG1免疫球蛋白Fc域序列的核心铰链序列侧翼的CH1和CH2区的残基。在其他实施方案中,铰链序列可包含GSTHTCPPCPAPELLG(SEQ ID NO:304)或由其组成。

[0528] 在一些实施方案中,铰链序列可包括一个或多个赋予所需药代动力学、生物物理学和/或生物学特性的取代。一些例示性的铰链序列包括EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS(SEQ ID NO:305)、EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ ID NO:306)、EPKSSGSTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ ID NO:307)、DKTHTCPPCPAPELLGGPS(SEQ ID NO:308)、和DKTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ

ID NO:309)。在一个实施方案中,上文提供的例示性人IgG1免疫球蛋白Fc域序列的位置18处的残基P可用S替换以除去Fc效应物功能;此置换例示于具有序列EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ ID NO:306)、EPKSSGSTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ ID NO:307)、和DKTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ ID NO:309)的铰链中。在另一个实施方案中,上文提供的例示性人IgG1免疫球蛋白Fc域序列的位置1-2的残基DK可用GS替换以去除可能的剪切位点;此置换例示于序列EPKSSGSTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ ID NO:307)中。在另一个实施方案中,人IgG1的重链恒定区(即域CH_1--CH_3)的位置103处的C可用S替换以防止在不存在轻链的情况下形成不正确的半胱氨酸键;此置换例示于序列EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPS(SEQ ID NO:305)、EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ ID NO:306)、和EPKSSGSTHTCPPCPAPELLGGSS(SEQ ID NO:307)中。

[0529] 额外的例示性Fc序列包括如下:

[0530] hIgG1a_191[A亚型]

[0531] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0532] (SEQ ID NO:323)

[0533] hIgG1a_189[hIgG1a_191C末端无“GK”;A亚型]

[0534] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSP

[0535] (SEQ ID NO:324)

[0536] hIgG1a_191b[A/F亚型]

[0537] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:325)

[0538] hIgG1f_1.1_191[含有5个用于改变ADCC功能的点突变,F亚型]

[0539] DKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

[0540] (SEQ ID NO:326)

[0541] hIgG1f_1.1_186[含有5个用于改变ADCC功能的点突变和C225S(Edlemen编号);F亚型]

[0542] EPKSSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH

YTQKSLSLSPGK(SEQ ID NO:327)

[0543] hIgG1a_(N297G)_191[A亚型]

[0544] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(SEQ ID NO:328)

[0545] hIgG1a_190[hIgG1a_190C末端无“K”;A亚型]

[0546] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPG(SEQ ID NO:329)

[0547] hIgG1a_(N297Q)_191[A亚型]

[0548] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(SEQ ID NO:330)

[0549] hIgG1a_(N297S)_191[A亚型]

[0550] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYSSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(SEQ ID NO:331)

[0551] hIgG1a_(N297A)_191[A亚型]

[0552] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYASTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(SEQ ID NO:332)

[0553] hIgG1a_(N297H)_191[A亚型]

[0554] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYHSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK(SEQ ID NO:333)

[0555] hIgG4

[0556] DKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGK(SEQ ID NO:334)

[0557] hIgG4_(S241P)

[0558] DKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGV EVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEM

TKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSLGK(SEQ ID NO:335)

[0559] 在一些实施方案中,Fc域包含选自SEQ ID NO:302和323-335的氨基酸序列。应了解Fc域的C末端赖氨酸是包含Fc域的融合蛋白的任选组分。在一些实施方案中,Fc域包含选自SEQ ID NO:302和323-335的氨基酸序列,但其C末端赖氨酸是删去的。在一些实施方案中,Fc域包含SEQ ID NO:302的氨基酸序列。在一些实施方案中,Fc域包含SEQ ID NO:302的氨基酸序列,但其C末端赖氨酸是删去的。

[0560] 在一些实施方案中,制得包含白蛋白结合序列的修饰的FGF-21多肽。例示性的白蛋白结合序列包括但不限于来自链球菌蛋白G的白蛋白结合域(参见例如Makrides等,J.Pharmacol.Exp.Ther.277:534-542(1996)和Sjolander等,J,Immunol.Methods 201:115-123(1997))或如描述于例如Dennis等,J.Biol.Chem.277:35035-35043(2002)中的那些的白蛋白结合肽。

[0561] 在一些实施方案中,用脂肪酸酰化本发明的修饰的FGF-21多肽。在一些情况下,脂肪酸有助于结合至血清白蛋白。参见例如Kurtzhals等,Biochem.J.312:725-731(1995)。

[0562] 在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽直接与血清白蛋白(包括但不限于人血清白蛋白)融合。本领域技术人员会认识到多种其他分子也可与本发明的修饰的FGF-21连接以调节与血清白蛋白或其他血清组分的结合。

[0563] XI.修饰的和未修饰的FGF-21多肽的糖基化

[0564] 本发明包括包含一个或多个带有糖残基的非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽。糖残基可为天然的(包括但不限于N-乙酰基葡糖胺)或非天然的(包括但不限于3-氟半乳糖)。糖可通过N-或O-连接的糖苷键(包括但不限于N-乙酰基半乳糖-L-丝氨酸)或非天然键(包括但不限于肟或对应C-或S-连接的糖苷)连接至非天然编码的氨基酸。

[0565] 可将糖(包括但不限于糖基)部分体内或体外添加至修饰的FGF-21多肽中。在本发明的一些实施方案中,包含含羰基的非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽可由用氨基氧基衍生化的糖修饰以产生经由肟键连接的对应糖基化多肽。一旦连接至非天然编码的氨基酸后,可进一步通过用糖基转移酶和其他酶处理来加工糖,以产生结合至修饰的FGF-21多肽的寡糖。参见例如H.Liu等,J.Am.Chem.Soc.125:1702-1703(2003)。

[0566] 在本发明的一些实施方案中,包含含羰基的非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽可用聚糖直接修饰,所述聚糖具有限定的结构,制备为氨基氧基衍生物。其他官能团,包括叠氮基、炔烃、酰肼、肼和氨基脲,可用于将糖连接至非天然编码的氨基酸。

[0567] 在本发明的一些实施方案中,包含含叠氮基或炔基的非天然编码氨基酸的修饰的FGF-21多肽可随后通过分别与(包括但不限于)炔基或叠氮基衍生物进行(包括但不限于)Huisgen[3+2]环加成反应来修饰。

[0568] XII.FGF-21二聚体和多聚物

[0569] 本发明还提供FGF-21和修饰的FGF-21组合,如同二聚体、异二聚体、同多聚体或异多聚体(即三聚体、四聚体等),其中含有一个或多个非天然编码氨基酸的修饰的FGF-21结合至另一个FGF-21或修饰的FGF-21或其变体或非FGF-21或修饰的FGF-21或其变体的任何其他多肽,直接结合至多肽主链或经由接头结合。由于其与单体相比增加的分子量,FGF-21二聚体或多聚体缀合物可相对于单体FGF-21表现出新的或所需的特性,包括但不限于不同

药理学、药代动力学、药效学、调节的治疗半衰期或调节的血浆半衰期。在一些实施方案中，本发明的修饰的FGF-21二聚体可调节FGF-21受体的信号转导。在其他实施方案中，本发明的修饰的FGF-21二聚体或多聚体可充当FGF-21受体拮抗剂、激动剂或调节剂。

[0570] XIII.测量FGF-21多肽活性和FGF-21多肽对FGF-21多肽受体的亲和力

[0571] 已显示在3T3-L1脂肪细胞中FGF-21会刺激葡萄糖摄取并增强胰岛素敏感性，3T3-L1脂肪细胞是一种如美国专利公开No.20040259780的实施例3中所示的用于研究脂肪组织代谢的体外模型，该文献通过提述以其整体并入本文。2型糖尿病的特征为包括脂肪组织的各种组织类型中葡萄糖摄取缺乏。因此，修饰的FGF-21可适用于通过降低血糖水平来治疗2型糖尿病。此外，修饰的FGF-21可适用于通过更快且更有效的葡萄糖使用增加能量消耗来治疗肥胖。另外，已显示FGF-21在3T3-L1脂肪细胞中以非胰岛素依赖性方式刺激葡萄糖摄取，从而指示其也可用于治疗1型糖尿病。参见美国专利公开No.20040259780。在美国专利公开No.20040259780中，FGF-21显示出在3T3-L1脂肪细胞中在次佳胰岛素浓度(5nM)处和在不存在胰岛素情况下以浓度依赖性方式刺激葡萄糖摄取。另外，在离体组织模型中，FGF-21诱导葡萄糖摄取，如美国专利公开No.20040259780中所述。

[0572] 可对修饰的FGF-21多肽进行生物活性测定。一般地，生物活性测试应对所需结果提供分析，所述结果如与未修饰的FGF-21或如本文其他地方所述的另一比较剂化合物相比，生物活性增加或减少、生物活性不同、受体或结合配偶体亲和力分析、修饰的FGF-21自身或其受体的构象或结构变化、或血清半衰期分析。

[0573] 使3T3-L1分化为脂肪细胞和葡萄糖摄取测定的例示性方法描述于美国专利No.8,012,931中，其通过提述以其整体并入本文。

[0574] XIV.测量效力、功能性体内半衰期和药代动力学参数

[0575] 本发明的一个方面是延长的生物半衰期，其可通过构建修饰的FGF-21多肽获得，所述修饰的FGF-21多肽可缀合至水溶性聚合物部分或融合至融合配偶体。FGF-21多肽血清浓度在施用后的快速降低已使其对评估对使用修饰的FGF-21多肽治疗的生物学响应具有治疗显著性。本发明的修饰的FGF-21多肽也还经由(例如皮下或静脉内施用)施用之后可具有延长的血清半衰期，从而使其能通过例如ELISA法或通过初步筛选测定来测量。如本文所述进行体内生物半衰期的测量。

[0576] 包含内部缺失和/或非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽的效力及功能性体内半衰期可根据本领域普通技术人员已知且如本文所述的方案来确定。

[0577] 在例示性的测定中，本文所述的未修饰的或修饰的FGF-21多肽的药代动力学参数可在正常Sprague-Dawley雄性大鼠(N＝5只动物/处理组)中评估。动物可接受静脉内25μg/大鼠或皮下50μg/大鼠的单次剂量，且根据预定时程获取约5-7个血液样品，一般而言对未与水溶性聚合物缀合的包含非天然编码的氨基酸的修饰的FGF-21多肽覆盖约6小时，并对包含非天然编码的氨基酸且与水溶性聚合物缀合的修饰的FGF-21多肽约4天。修饰的FGF-21的药代动力学数据可与比较剂化合物相比，所述比较剂化合物如SEQ ID NO:1的野生型FGF-21多肽、SEQ ID NO:201的修饰的FGF-21多肽、缺乏内部缺失的相同修饰的FGF-21多肽或本文所述其他比较剂化合物。

[0578] 药代动力学参数还可在灵长类动物(如食蟹猴)中进行评估。通常，皮下或静脉内施用单次注射，并随时间监测血清FGF-21含量。

[0579] 本发明的多肽可用于治疗患有非胰岛素依赖性糖尿病(NIDDM:2型)、胰岛素依赖性糖尿病(1型)以及肥胖、葡萄糖清除不足、高血糖症、高胰岛素血症等的哺乳动物。如美国专利公开No.20040259780中所示,FGF-21对于糖尿病和肥胖的动物模型有效,该文献通过提述以其整体并入本文。由于各种肥胖和糖尿病的动物模型中的代谢特征不同,因此分析了多种模型以分离高胰岛素血症、高血糖症和肥胖的效果。糖尿病(db/db)和肥胖(ob/ob)小鼠的特征在于非常肥胖、暴食、可变的高血糖症、胰岛素抗性、高胰岛素血症及生热受损(Coleman,Diabetes 31:1,1982;E.Shafrir,in Diabetes Mellitus;H.Rifkin和D.Porte,Jr.编(Elsevier Science Publishing Co.,Inc.,New York,第4版,1990),pp.299-340)。然而,在db/db模型中糖尿病更为严重(Coleman,Diabetes 31:1,1982;E.Shafrir,in Diabetes Mellitus;H.Rifkin和D.Porte,Jr.编(Elsevier Science Publishing Co.,Inc.,New York,第4版,1990),pp.299-340)。Zucker(fa/fa)大鼠患严重肥胖、高胰岛素血症性及胰岛素抗性(Coleman,Diabetes 31:1,1982;E.Shafrir,in Diabetes Mellitus;H.Rifkin和D.Porte,Jr.编(Elsevier Science Publishing Co.,Inc.,New York,第4版,1990),pp.299-340),且fa/fa突变可为鼠类db突变的大鼠等效物(Friedman等,Cell 69:217-220,1992;Truett等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:7806,1991)。Tubby(tub/tub)小鼠的特征在于肥胖、中度胰岛素抗性及高胰岛素血症,而无显著高血糖症(Coleman等,J.Heredity 81:424,1990)。

[0580] 还可检查化学诱导的肥胖的谷氨酸单钠(MSG)模型(Olney,Science164:719,1969;Cameron等,Cli.Exp.Pharmacol.Physiol.5:41,1978),其中与遗传模型中相比其肥胖较不严重且未发展为暴食、高胰岛素血症及胰岛素抗性。最终,可测试化学诱导的糖尿病的链脲霉素(STZ)模型以检查在不存在肥胖情况下高血糖症的影响。STZ处理的动物缺乏胰岛素且具有严重高血糖(Coleman,Diabetes 31:1,1982;E.Shafrir,in Diabetes Mellitus;H.Rifkin和D.Porte,Jr.编(Elsevier Science Publishing Co.,Inc.,New York,第4版,1990),pp.299-340)。

[0581] 可在ob/ob小鼠中的体内败血性休克模型中评价本发明的修饰的FGF-21多肽。参见美国专利公开No.20050176631,其通过提述以其整体并入本文。

[0582] 用于分析FGF-21诱导的ERK1/2磷酸化的方法

[0583] FGF-21(野生型或修饰的FGF-21多肽,包括连接至PEG或其他接头、聚合物或生物活性分子的那些)诱导的ERK1/2磷酸化可通过如下例示性方法进行:

[0584] 在以聚赖氨酸涂布的平板中用人Klothoβ以100,000个细胞/孔(DMEM+10%FBS)稳定转染的种细胞(seed)293。第二天,细胞100%汇合,抽出培养基并用新鲜培养基替换并温育过夜。24小时之后,用所选的未修饰或修饰的FGF-21或FGF-21类似物用作标准FGF21WT刺激细胞。各个化合物通过用PBS/1%BSA稀释来制备。在37℃于培养箱中重复三次处理细胞10min。10min温育后,自各孔小心抽出培养基并将40μl含有蛋白酶/磷酸酶抑制剂(PI混合物,Na3VN4和PMSF)的冷的1×Cell Signaling裂解缓冲液添加至各孔中以产生细胞裂解液。将96孔/板置于冰上20分钟,然后以4000rpm减慢旋转10min。将细胞裂解液冷冻于-80℃。随后将各样品复苏且将10μl细胞裂解液被添加至涂布有捕获非磷酸化与磷酸化形式的ERK1/2的抗体的MSD处理的平板中。与一抗一起温育2小时,然后用特异性缓冲液洗涤平板数次,然后添加二抗。1小时之后,再洗涤温育平板数次。将用于读取的缓冲液添加至各孔。

将平板转移至MSD读取器中。产生的曲线基于抗磷酸化ERK1/2读取单元且使用Sigma图(Sigma Plot)计算EC50。通过将测试化合物的EC50除以WT的EC50计算活性的倍数减少。

[0585] 确定大鼠中修饰的FGF-21多肽的药代动力学特性

[0586] 这些例示性方法可用于测量插入导管的大鼠中的天然和修饰的FGF-21化合物的药代动力学特性。通过对人FGF-21特异性的ELISA测定来自给药后的特定时间点获得的血清样品的测试制品的药代动力学。

[0587] 在研究开始时十二(12)只称重约250-275克的雄性Sprague-Dawley(SD)大鼠可具有以手术方式设置的颈静脉导管。动物处于良好状态且可在研究开始之前适应研究场所至少3天。可在施用测试制品当天称重大鼠。可将动物豢养于具有任取额食品及水的标准无病原体条件中。

[0588] 化合物例如以0.25mg/kg皮下施用。

[0589] 在施用测试制品之前称重动物。配制化合物从而按1X BW以μL计来施用。将皮下施用的测试制品注射至背侧肩胛部位中。动物可接受测试制品的单次注射(时间＝0)。在所选时间点,可自动物抽取全血,收集至SST微量采血收集管中。在离心之前可使血清凝结30分钟。可将血清转移至聚丙烯滴定管中,用微带线密封且储存于-80℃直至通过ELISA分析以确定未修饰的或修饰的FGF-21血清浓度。

[0590] 各动物均可用于完全PK时程。可自颈静脉导管抽取约0.25mL全血。在血液收集之后立即可用0.1mL生理盐水冲洗导管。接收测试制品材料的动物的以下收集时间点需要加以选择,但可基于测试制品的预期药代动力学概况加以修饰:

[0591] 预先放血、给药后1、2、4、8、24、32、48、56、72及96小时。确定各测试化合物的药代动力学参数,其可包括λ_z、λ_z_下限、λ_z_上限、HL_λ_z、Tmax、Cmax、C0、AUCINF_obs、Vz_obs、Cl_obs、MRTINF_obs和/或Vss_obs。

[0592] ZDF大鼠中的修饰的FGF-21的体内研究

[0593] 向小鼠或大鼠施用修饰的FGF-21、未修饰的FGF-21和缓冲溶液。结果显示与未修饰的FGF-21相比,本发明的修饰的FGF-21多肽的活性及半衰期。

[0594] WO 2005/091944描述了可用如本发明化合物的FGF-21化合物来进行的药代动力学研究。本发明的修饰的FGF-21多肽通过静脉内或皮下途径向小鼠施用。在给药前及给药后的时间点对动物抽血。自各样品收集血浆并通过放射免疫分析来分析。可计算并比较包含内部缺失和/或非天然编码的氨基酸或融合配偶体的修饰的FGF-21多肽与野生型FGF-21或本发明的各种形式的FGF-21多肽之间的排除半衰期。类似地,可向食蟹猴施用本发明的修饰的FGF-21多肽。在给药前及给药后的时间点对动物抽血。从各样品收集血浆且通过放射免疫测定来分析。

[0595] 可向ZDF雄性大鼠施用本发明的多肽(糖尿病性肥胖大鼠;在研究开始时8周龄,Charles River-GMI)。对大鼠任意饲喂Purina 5008饲料。设定如下测试组:盐水;胰岛素4U/天;未修饰的或修饰的FGF-21,500μg/天快速(快速给药组为给药一次且在给药后T＝0、2、4、8及24小时时抽血);未修饰的或修饰的FGF-21,100μg/天;未修饰的或修饰的FGF-21,250μg/天;未修饰的或修饰的FGF-21,500μg/天;未修饰的或修饰的FGF-21(一次/天),500μg/ml;瘦(Lean)盐水;瘦胰岛素4U/天;瘦未修饰的或修饰的FGF-21,500μg/天。瘦组表示非糖尿病性瘦ZDF大鼠。

[0596] 皮下注入化合物(每天2次),第二500μg/天组除外,其每天接受一次注射维持研究持续时间(7天)。向对照大鼠注射介质(PBS;0.1ml)。给药7天之后,对动物进行口服葡萄糖耐量测试。通过无麻醉剂切尾取血收集用于葡萄糖和甘油三酯的血液。修饰的FGF-21多肽可以剂量依赖性方式降低血浆葡萄糖含量。与给药胰岛素的大鼠相比时,瘦ZDF大鼠在暴露于本发明的修饰的FGF-21多肽之后也可以不是低血糖的。

[0597] ob/ob肥胖模型中修饰的FGF-21的体内研究

[0598] ob/ob小鼠模型是高血糖症、胰岛素抗性和肥胖的动物模型。与介质和胰岛素对照组相比,可测量ob/ob小鼠中用未修饰的或修饰的FGF-21多肽处理后的血浆葡萄糖含量。在此肥胖模型中,雄性ob/ob小鼠的测试组(7周龄)用介质单独(PBS)、胰岛素(4U/天)或未修饰的或修饰的FGF-21多肽(5μg/天和25μg/天)皮下注射(0.1ml,每天两次)持续七天。在第1、3及7天、在第一化合物注射之后一小时通过切尾取血收集血液,并使用标准方案测量血浆葡萄糖含量。本发明的修饰的FGF-21多肽刺激葡萄糖摄取,但当与培养基对照组相比时其降低血浆葡萄糖含量。可在用本发明的修饰的FGF-21多肽处理后将甘油三酯水平与其他分子相比。可通过多剂、连续输注或单剂等向小鼠施用多肽。

[0599] 修饰的FGF21多肽的药代动力学评估:

[0600] 在大鼠中评估具有不同的PEG缀合位点的修饰的FGF-21的药代动力学特性。研究的其他参数是PEG MW以及所施用的化合物的剂量。确定百分比生物利用度。

[0601] 所有动物实验均在实验动物关怀及使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee)批准的协议下进行。雄性(175-300g)Sprague-Dawley大鼠获取自Charles River Laboratories。将大鼠独立豢养于12h光/暗循环下的房间中的笼中,并在实验之前适应饲养室至少3天。使动物任意取食经认证的Purina啮齿动物饲料5001和水。

[0602] 将导管以手术方式安装至颈静脉中用于血液收集。在成功地使导管通畅之后,在给药前将动物分配至处理组。以1mL/kg的给药体积静脉内或皮下施用单次剂量的化合物。化合物剂量浓度通过使用如释放证书(Certificate of Release)中所指定的储备液浓度的PBS稀释而得到。经由留置导管在不同时间点收集血液样品并将血液样品置于SST微量离心管中。在离心之后收集血清,并将其储存于-80℃直至进行分析。

[0603] 如下进行定量Sprague-Dawley大鼠血清中修饰的FGF-21的分析。以用作捕获试剂的山羊抗人FGF-21IgG多克隆抗体(PAb;RnD系统,克隆AF2539)来涂布微板孔。通过将未修饰的或修饰的FGF-21掺入100％Sprague Dawley大鼠血清中制得标准(STD)与质量控制(QC)样品,并在用I-封闭缓冲液1:100预处理之后将研究样品加载于孔中。通过固定的PAb捕获STD、QC和研究样品中的未修饰的或修饰的FGF-21。通过洗涤孔去除未结合材料。将生物素山羊抗人FGF-21IgG PAb(RnD系统,克隆BAF2539)添加至孔中,然后是洗涤步骤,并添加链霉亲和素辣根过氧化酶(SA-HRP;RnD系统,目录号DY998)用于检测捕获的未修饰的或修饰的FGF-21。在再一次洗涤步骤之后,将四甲基联苯胺(TMB,Kirkegaard Perry Laboratories)基质溶液添加至孔中。TMB与过氧化物在HRP存在下反应并产生与由最初步骤中的捕获试剂结合的FGF-21(野生型或修饰的FGF-21)的那些成正比的比色信号。通过添加2N硫酸终止显色并测量450nm处的颜色的强度(光密度,OD)。用于研究样品和QC的OD单位向浓度的转换通过相同平板上的标准曲线的计算机软件介导的比较来实现,该曲线根据5参数逻辑回归模型使用SOFTmax Pro v5数据简化包进行回归。结果以ng/mL浓度单位报告。

[0604] 浓度还可通过双抗体夹心测定或本领域技术人员已知的其他方法来测量。使用产生自对应给药化合物的标准曲线来计算浓度。使用建模程序WinNonlin(Pharsight,4.1版)来估算药代动力学参数。使用线性-上/对数-下梯形积分下的受试者动物数据的非区室分析,且浓度数据均一地加权。

[0605] XV.施用及药物组合物

[0606] 本文还提供包含治疗有效量的本文所述的修饰的FGF-21多肽和药学上可接受的载剂或赋形剂的组合物。此类载剂或赋形剂包括但不限于生理盐水、缓冲生理盐水、右旋糖、水、丙三醇、乙醇和/或其组合。制备使得配制物适合于施用模式。一般地,施用蛋白的方法是本领域普通技术人员已知的且可用于施用本发明的多肽。

[0607] 例如,可向患者施用浓度为约0.1至100mg/每千克接受患者体重的本文所述的修饰的FGF-21多肽。在一个实施方案中,可向患者施用浓度为约0.5-5mg/每千克接受患者体重的本文所述的修饰的FGF-21多肽。在另一个实施方案中,可以按每天一次至每两周一次的频率,如约每周一次或两次、每两天一次、每三天一次、每四天一次、每五天一次或每六天一次的频率向接受患者施用本文所述的修饰的FGF-21多肽。

[0608] 应了解,向给定患者施用的修饰的FGF-21多肽的浓度可高于或低于上述例示性施用浓度。

[0609] 根据本发明中提供的信息,本领域技术人员能够例如通过本文中的公开内容及如下文献的教导的指导通过常规实验确定有效施用剂量及频率:Goodman,L.S.,Gilman,A.,Brunton,L.L.,Lazo,J.S.,&Parker,K.L.(2006).Goodman&Gilman's the pharmacological basis of therapeutics.New York:McGraw-Hill;Howland,R.D.,Mycek,M.J.,Harvey,R.A.,Champe,P.C.,&Mycek,M.J.(2006).Pharmacology.Lippincott's illustrated reviews.Philadelphia:Lippincott Williams&Wilkins;和Golan,D.E.(2008).Principles of pharmacology:the pathophysiologic basis of drug therapy.Philadelphia,Pa.,(等):Lippincott Williams&Wilkins。

[0610] 可改变修饰的FGF-21的平均量,并具体而言应当基于有资质的医师的建议和处方。修饰的FGF-21的确切量优选地涉及如要治疗的病况的确切类型、要治疗的患者的病况以及组合物中的其他成分的因素。本发明还提供施用治疗有效量的另一活性剂。给定量可容易地由本领域普通技术人员确定。

[0611] "药物组合物"是指适于向哺乳动物施用的化学或生物组合物。此类组合物可经具体配制用于经由一种或多种途径施用,所述途径包括但不限于经口、上表皮、硬膜外、吸入、动脉内、心内、脑室内、皮内、肌内、鼻内、眼内、腹膜内、脊柱内、鞘内、静脉内、口服、胃肠外、经由灌肠剂或栓剂的经直肠、皮下、真皮下、舌下、透皮和经黏膜。此外,可通过注射剂、粉剂、液体、凝胶、滴剂或其他施用手段进行施用。

[0612] 如本文所用的"药学上可接受的载剂"或"赋形剂"包括生理学上相容的任何及所有溶剂、分散培养基、涂层、抗细菌剂及抗真菌剂、等张剂及吸收延迟剂。在一个实施方案中,载剂适用于胃肠外施用。或者,载剂可适用于静脉内、腹膜内、肌内或舌下施用。药学上可接受的载剂包括无菌水溶液或分散液及用于即时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉剂。

[0613] 在一些实施方案中,药物组合物可以冻干形式存在。组合物可配制为溶液、微乳

液、脂质体或适合于高药物浓度的其他有序结构。载剂可为含有例如水、乙醇、多元醇(例如丙三醇、丙二醇及液态聚乙二醇)的溶剂或分散介质及其适合混合物。本发明进一步涵盖在药物组合物中包含稳定剂。可例如通过维持所需的粒度(在分散液的情况下)及通过使用表面活性剂来维持适当流动性。

[0614] 在许多情况下,在组合物中可优选地包括等张剂,例如糖、多元醇(如甘露醇、山梨糖醇)或氯化钠。通过包括如单硬脂酸盐和明胶的药剂,可延长可注射组合物的吸收。此外,多肽可以延时释放配制物形式(例如以包括缓释聚合物的组合物形式)配制。活性化合物可用载剂制备,所述载剂保护化合物以免快速释放,如控制释放型制剂,包括移植物及微胶囊化递送系统。可使用生物可降解、生物相容性聚合物,如乙烯乙酸乙烯酯、聚酸酐、聚乙醇酸、胶原、聚原酸酯、聚乳酸和聚乳酸、聚乙醇酸共聚物(PLG)。制备此类配制物的多种方法是本领域技术人员已知的。

[0615] 本发明的修饰的FGF-21多肽及组合物可通过适用于蛋白或肽任何常规途径施用,所述途径包括但不限于胃肠外、例如注射剂(包括但不限于皮下或静脉内)或任何其他形式的注射剂或输注。多肽组合物可通过多种途径施用,包括但不限于口服、静脉内、腹膜内、肌内、经皮、皮下、局部、舌下或经直肠的方法。还可经由脂质体施用包含修饰的FGF-21的组合物。修饰的FGF-21多肽可单独或与其他适合组分(药物载剂)组合使用。修饰的FGF-21多肽可与其他药剂(包括但不限于口服抗糖尿病剂)组合使用。

[0616] 术语“抗糖尿病剂”应意指可用于治疗、预防任何葡萄糖代谢病症或其任何并发症(包括本文所述的病况、疾病或并发症的任一种)或以其他方式降低其严重程度的任何药物。抗糖尿病剂包括胰岛素、噻唑烷二酮类、磺酰脲类、苯甲酸衍生物、α-葡糖苷酶抑制剂等等。

[0617] 本领域中熟知的用于处理糖尿病及其前驱综合征(如胰岛素抗性)的当前药物或抗糖尿病剂包括五类化合物:双胍类,例如二甲双胍;噻唑烷二酮类,例如曲格列酮;磺酰脲类,例如甲苯磺丁脲及格列本脲;苯甲酸衍生物,例如瑞格列奈;和葡糖苷酶抑制剂。除这些药剂以外,多种其他疗法可与本发明FGF-21多肽组合使用以改进葡萄糖控制,包括但不限于DPP-4抑制剂。临床试验中测试的前导DPP-4化合物包括维格列汀(Galvus)(LAF237)、西他列汀(Januvia)、沙格列汀及阿格列汀、诺华(Novartis)化合物1-[[[2-[(5-氰基吡啶-2-基)氨基]乙基]氨基]乙酰基]-2-氰基-(S)-吡咯烷(NVP DPP728)。

[0618] 另一类抗糖尿病剂是肉毒碱棕榈酰基-转移酶I(CPT-I)的抑制剂,如乙莫克舍(etomoxir)。

[0619] 其他已知抗糖尿病剂包括胰岛素制剂(例如从牛和猪的人胰脏提取的动物胰岛素制剂;使用大肠杆菌、酵母遗传合成的人胰岛素制备物;锌胰岛素;鱼精蛋白锌胰岛素;胰岛素的片段或衍生物(例如INS-1)、口服胰岛素制备物)胰岛素敏化剂(例如吡格列酮或其盐(优选为盐酸盐)、罗格列酮或其盐(优选为顺丁烯二酸盐)、萘格列酮(Netoglitazone)、来格列酮(Rivoglitazone)(CS-011)、FK-614(WO01/38325中所述的化合物)、替格列扎(AZ-242)、拉格列扎(Ragaglitazar)(N,N-622)、莫格列扎(Muraglitazar)(BMS-298585)、依格列酮(Edaglitazone)(BM-13-1258)、美格列森(Metaglidasen)(MBX-102)、那格列扎(Naveglitazar)(LY-519818)、MX-6054、LY-510929、AMG-131(T-131)、THR-0921)、α-葡糖苷酶抑制剂(例如伏格列波糖、阿卡波糖、米格列醇、乙格列酯等)、双胍(例如苯乙双胍、二甲

双胍、丁双胍或其盐(例如盐酸盐、反丁烯二酸盐、丁二酸酯))、胰岛素促分泌物[磺酰脲类(例如甲苯磺丁脲、格列本脲、格列齐特(gliclazide)、氯磺丙脲(chlorpropamide)、甲磺氮草脲(tolazamide)、醋磺环已脲(acetohexamide)、格列吡脲(glyclopyramide)、格列美脲(glimepiride)、格列吡嗪(glipizide)、格列丁唑(glybuzole))、瑞格列奈(repaglinide)、那格列奈(nateglinide)、米格列奈(mitiglinide)或其钙盐水合物]、二肽基肽酶IV抑制剂(例如维达列汀(Vidagliptin)(LAF237)、P32/98、西他列汀(Sitagliptin)(MK-431)、P93/01、PT-100、沙格列汀(Saxagliptin)(BMS-477118)、T-6666、TS-021)、β3激动剂(例如AJ-9677)、GPR40激动剂、类胰高血糖素多肽(I)(glpI)、(glp2)或其他致糖尿病肽激素、GLP-1受体激动剂[例如GLP-1、GLP-1MR药剂、N,N-2211、AC-2993(毒蜥外泌肽-4)、BIM-51077、Aib(8,35)hGLP-1(7,37)NH_2、CJC-[131]、糊精激动剂(例如普兰林肽)、磷酸酪氨酸磷酸酶抑制剂(例如钒酸钠)、葡糖新生抑制剂(例如肝糖磷酸化酶抑制剂、葡萄糖-6-磷酸酶抑制剂、胰高血糖素拮抗剂)、SGLT2(钠-葡萄糖共转运蛋白)抑制剂(例如T-1095)、11β-羟基类固醇去氢酶抑制剂(例如BVT-3498)、脂联素或其激动剂、IKK抑制剂(例如AS-2868)、瘦素抗性改进药、生长抑素受体激动剂(WO01/25228、WO03/42204、WO98/44921、WO98/45285、WO99/2273.5等中所述的化合物)、葡糖激酶活化剂(例如Ro-28-1675)、GIP(葡萄糖依赖性促胰岛素肽)等是可提及的。

[0620] 还可将修饰的FGF-21制成用于经吸入施用的气雾剂配制物(即可将其“雾化”)。可将气雾剂配制物置于可接受加压的推进剂中,如二氯二氟甲烷、丙烷、氮气等。

[0621] 适用于胃肠外施用,如通过关节内(关节中)、静脉内、肌内、皮内、腹膜内及皮下途径施用的配制物包括可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使配制物与预期接受者的血液等张的溶质的水性及非水性等张无菌注射溶液,及可包括悬浮剂、增溶剂、增稠剂、稳定剂和防腐剂在一起的水性及非水性无菌注射液。修饰的FGF-21的配制物可以单位剂量或多剂量密封容器(如安瓿和小瓶)的形式存在。

[0622] 在本发明的上下文中,向患者施用的剂量足以在患者中随时间具有有益治疗响应或取决于应用而具有其他适当活性。剂量通过配制物的功效及所用的修饰的FGF-21多肽的活性、稳定性或血清半衰期和患者的健康状况以及待治疗的患者的体重或体表面积来确定。

[0623] 向例如70千克患者施用的剂量通常范围为等于目前所用治疗蛋白的剂量,其经调节以改变相关组合物的活性或血清半衰期。

[0624] 对于施用,本发明的配制物以由相关配制物的LD-50或ED-50和/或各种浓度的修饰的FGF-21多肽的任何副作用的观察结果(包括但不限于应用于患者的质量及总体健康状况时)确定的速率施用。施用可经由单次或分次剂量来实现。

[0625] 可向哺乳动物受试者直接施用本发明的修饰的FGF-21多肽。施用通过常用于向受试者引入FGF-21多肽的任何途径进行。本发明的修饰的FGF-21多肽可以单位剂量可注射形式与药学上可接受的载剂一起制备成混合物(包括但不限于溶液、悬浮液或乳剂)。本发明的修饰的FGF-21多肽还可通过连续输注(使用(包括但不限于)微型泵,如渗透泵)、单次推注或缓慢释放的储藏式配制物施用。

[0626] 适用于施用的配制物包括水溶液和非水溶液、等张无菌注射溶液,其可含有抗氧化剂、缓冲剂、抑菌剂和使配制物与预期接受者血液等渗的溶质;以及可包括悬浮剂、增稠

剂、增稠剂、稳定剂及防腐剂的水性和非水性无菌悬浮液。可从前述种类的无菌粉剂、颗粒剂和片剂制备溶液及悬浮液。

[0627] 本发明的药物组合物和配制物可包含药学上可接受的载剂、赋形剂或稳定剂。

[0628] 适合的载剂包括但不限于:含有琥珀酸盐、磷酸盐、硼酸盐、HEPES、柠檬酸盐、组氨酸、咪唑、乙酸盐、碳酸氢盐及其他有机酸的缓冲剂;抗氧化剂,包括但不限于抗坏血酸;低分子量多肽,包括但不限于小于约10个残基的那些;蛋白质,包括但不限于血清白蛋白、明胶或免疫球蛋白;亲水性聚合物,包括但不限于聚乙烯吡咯啶酮;氨基酸,包括但不限于甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸、组氨酸组氨酸或组氨酸衍生物、甲硫氨酸、谷氨酸或赖氨酸;单糖、双糖及其他糖类,包括但不限于海藻糖、蔗糖、葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,包括但不限于EDTA和乙二酸四乙酸钠;二价金属离子,包括但不限于锌、钴或铜;糖醇,包括但不限于甘露糖醇或山梨糖醇;成盐抗衡离子,包括但不限于钠和氯化钠;和/或非离子型表面活性剂,包括但不限于Tween™(包括但不限于Tween 80(聚山梨醇酯80)和Tween 20(聚山梨醇酯20))、Pluronics™和其他普朗尼克酸(包括但不限于普朗尼克酸F68(泊洛沙姆188))或PEG。适合的表面活性剂包括例例如但不限于基于聚(氧化乙烯)-聚(氧化丙烯)-聚(氧化乙烯),即(PEO-PPO-PEO)或聚(氧化丙烯)-聚(氧化乙烯)-聚(氧化丙烯),即(PPO-PEO-PPO)或其组合的聚醚。PEO-PPO-PEO及PPO-PEO-PPO可以商品名Pluronics™、R-Pluronics™、Tetronics™和R-Tetronics™(BASF Wyandotte Corp.,Wyandotte,Mich.)购得且进一步描述于美国专利No.4,820,352中,该文献通过提述以其整体并入本文。其他乙烯/聚丙烯嵌段聚合物可为适合的表面活性剂。表面活性剂或表面活性剂的组合可用于稳定聚乙二醇化的修饰的FGF-21以抵抗一种或多种应力,包括但不限于由搅动产生的应力。上文中的一些可称为“膨胀剂”。一些还可称为“张力调节剂”。还可应用抗微生物防腐剂以提供产品稳定性和抗微生物有效性;适合的防腐剂包括但不限于苯甲醇、苯扎氯铵、间甲酚、对羟基苯甲酸甲/丙酯、甲酚和苯酚、或其组合。

[0629] 本发明的修饰的FGF-21多肽(包括与水溶性聚合物(如PEG)连接的那些多肽)还可通过持续释放系统或作为其一部分施用。持续释放组合物包括(包括但不限于)呈成型制品形式(包括但不限于膜或微胶囊)的半渗透聚合物基质。持续释放基质包括生物相容性物质,如聚(2-甲基丙烯酸羟基乙酯)、乙烯乙酸乙烯酯(或聚-D-(-)-3-羟基丁酸)、聚丙交脂(聚乳酸)、聚乙交酯(乙醇酸的聚合物)、聚丙交酯共乙交酯(乳酸及乙醇酸的共聚物)、聚酸酐、L-谷氨酸及γ-乙基-L-谷氨酸的共聚物、聚(邻)酯、多肽、透明质酸、胶原、软骨素硫酸酯、羧酸、脂肪酸、磷脂、多糖、核酸、聚氨基酸、氨基酸(如苯丙氨酸、酪氨酸、异亮氨酸)、多核苷酸、聚乙烯丙烯、聚乙烯吡咯烷酮和硅酮(silicone)。持续释放组合物还包括由脂质体包埋的化合物。含有化合物的脂质体通过已知方法来制备。

[0630] 在本发明的上下文中,施用患者的剂量应足以随时间在受试者体内实现有益响应。一般地,每剂量的胃肠外施用的本发明的修饰的FGF-21多肽的总体药学有效量范围为0.01μg/kg/天至约100μg/kg,或约0.05mg mg/kg至约1mg/kg的患者体重,但此量要经受治疗性判断。

[0631] 在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽调节抗糖尿病剂的效果。在本发明的另一个实施方案中,修饰的FGF-21多肽可与抗糖尿病剂一起施用。在本发明的另一个实施方案中,可在用抗糖尿病剂治疗之前施用修饰的FGF-21多肽。在本发明的另一个实施

方案中,可在用抗糖尿病剂治疗之后施用修饰的FGF-21多肽。在本发明的另一个实施方案中,修饰的FGF-21多肽与二甲双胍一起施用。在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽与Klothoβ一起施用。在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽与包括一个或多个非天然编码的氨基酸的Klothoβ一起施用。在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽与Klothoβ及抗糖尿病剂一起施用。在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽与抗糖尿病剂一起施用。在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽与如下一项或多项组合使用:牛磺酸、α硫辛酸、桑椹提取物、铬、谷氨酰胺、Enicostemma littorale Blume、野甘草(Scoparia dulcis)、龙蒿提取物及穿心莲。在一些实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽与如下一项或多项组合使用:胰岛素制剂(例如从牛和猪的胰脏提取的动物胰岛素制剂;使用大肠杆菌、酵母基因合成的人胰岛素制剂;锌胰岛素;鱼精蛋白锌胰岛素;胰岛素的片段或衍生物(例如INS-1)、口服胰岛素制剂)、胰岛素敏化剂(例如吡格列酮或其盐(优选地为盐酸盐)、罗格列酮或其盐(优选地为顺丁烯二酸盐)、萘格列酮利格列酮(CS-011)、FK-614、WO01/38325中所述的化合物、替格列扎(AZ-242)、拉格列扎(N,N-622)、莫格列扎(BMS-298585)、依格列酮(BM-13-1258)、美格列森(MBX-102)、那格列扎(LY-519818)、MX-6054、LY-510929、AMG-131(T-131)、THR-0921)、α-葡糖苷酶抑制剂(例如伏格列波糖、阿卡波糖、米格列醇、乙格列酯等)、双胍(例如苯乙双胍、二甲双胍、丁双胍或其盐(例如盐酸盐、反丁烯二酸盐、琥珀酸酯))、胰岛素促分泌物[磺酰脲类(例如甲苯磺丁脲、格列本脲、格列齐特、氯磺丙脲、甲磺氮卓脲、醋磺环已脲、格列吡脲、格列美脲、格列吡嗪、格列丁唑)、瑞格列奈、那格列奈、米格列奈或其钙盐水合物]、二肽基肽酶IV抑制剂(例如维达列汀(LAF237)、P32/98、西他列汀(MK-431)、P93/01、PT-100、沙格列汀(BMS-477118)、T-6666、TS-021)、β3激动剂(例如AJ-9677)、GPR40激动剂、类胰高血糖素多肽(I)(glp I)、(glp2)或其他致糖尿病肽激素、GLP-1受体激动剂[例如GLP-1、GLP-1MR剂、N,N-2211、AC-2993(毒蜥外泌肽-4)、BIM-51077、Aib(8,35)hGLP-1(7,37)NH_2、CJC-[131]、糊精激动剂(例如普兰林肽)、磷酸酪氨酸磷酸酶抑制剂(例如钒酸钠)、葡糖新生抑制剂(例如肝糖磷酸化酶抑制剂、葡萄糖-6-磷酸酶抑制剂、胰高血糖素拮抗剂)、SGLUT(钠-葡萄糖共转运蛋白)抑制剂(例如T-1095)、11β-羟基类固醇去氢酶抑制剂(例如BVT-3498)、脂联素或其激动剂、IKK抑制剂(例如AS-2868)、瘦素抗性改进药、生长抑素受体激动剂(WO01/25228、WO03/42204、WO98/44921、WO98/45285、WO99/22735等所述的化合物)、葡糖激酶活化剂(例如Ro-28-1675)、GIP(葡萄糖依赖性促胰岛素肽)。

[0632] 可确定多肽的治疗功效和组合疗法(包括本发明的多肽)的一种方式是患者HbA1c含量降低。在一个实施方案中,本发明的多肽使HbA1c含量比用修饰的FGF-21多肽开始治疗之前两个月、用修饰的FGF-21多肽开始治疗之前三个月的HbA1c水平降低至少1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%或至少50%的变化,或自基线的百分比变化。在另一个实施方案中,向还在用抗糖尿病剂治疗的患者施用本发明的多肽能调节抗糖尿病剂降低血糖的能力。

[0633] 在另一个实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽调节曲格列酮降低胰岛素需求的能力。在本发明的一些实施方案中,与本发明的多肽组合使用的曲格列酮可用于延缓或预防2型糖尿病。

[0634] 在本发明的一个实施方案中,修饰的FGF-21多肽与磺酰脲类一起施用或在用磺酰脲类治疗之前或之后施用。在本发明的一些实施方案中,用治疗性剂量的修饰的FGF-21多肽治疗能调节血清葡萄糖。在另一个实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽与Klothoβ一起施用,由此调节多肽对血糖的作用。在另一个实施方案中,本发明的修饰的FGF-21多肽与Klothoβ一起施用,由此比单独使用修饰的FGF-21多肽更能降低血糖。

[0635] XVI.本发明的修饰的FGF-21多肽的治疗用途

[0636] 本发明的修饰的FGF-21多肽可用于治疗患有非胰岛素依赖性糖尿病(NIDDM:2型)、胰岛素依赖性糖尿病(1型)以及肥胖、葡萄糖清除不足、高血糖症、高胰岛素血症及任何可由FGF-21介导的其他疾病或病况的哺乳动物。

[0637] 普拉德-威利综合征(P.W.S.或PWS)是一种罕见遗传病症,其中染色体15(q 11-13)上的七个基因(或其一些子集)在父系染色体上是缺失的或不表达(染色体15q部分缺失)。PWS的特征为肌肉张力低、身高矮、性发育不完整、认知障碍、问题行为和可导致饮食过量并危及生命的肥胖的持续饥饿感。

[0638] 本发明提供一种治疗表现出如下一项或多项的哺乳动物的方法:1型糖尿病、2型糖尿病、肥胖、胰岛素抗性、高胰岛素血症、葡萄糖不耐症或高血糖症,其包括向所述需要此类治疗的哺乳动物施用治疗有效量的本发明的修饰的FGF-21多肽。

[0639] 治疗方法可足以在所述哺乳动物中实现如下修饰的至少一项:体脂肪储存降低、胰岛素抗性减轻、高胰岛素血症减轻、葡萄糖耐受增加和高血糖症减轻。

[0640] 本发明还涵盖一种降低患有与感染性损害相关的全身炎症反应综合征(SIRS)的危重患者死亡率及发病率的方法,所述全身炎症反应综合征如败血症、胰腺炎、局部缺血、多处创伤及组织损伤、出血性休克、免疫介导性的器官损伤、呼吸窘迫、休克、肾衰竭及多器官功能障碍综合征(MODS)以及非感染性病理性病因,该方法包括向危重患者施用治疗有效量的修饰的FGF-21。

[0641] 在一个实施方案中,本发明提供将本文公开的修饰的FGF-21多肽与另一药剂组合的组合物和方法,其用于治疗葡萄糖代谢受损(如胰岛素抗性、胰岛素分泌受损或高血糖症)。此类其他药剂包括例如如下一项或多项:磺酰脲类、PPAR-γ激动剂、GPL-1受体激动剂、二肽基肽酶IV抑制剂、糊精类似物、双胍、多巴胺D2受体激动剂、美格替耐、α-葡糖苷酶抑制剂、抗脂质异常性胆酸螯合剂、胰岛素、细胞激素疗法、基因疗法和抗体疗法。在一些实施方案中,可向经施用如下另一治疗而未实现血糖浓度正常的患者施用本文公开的修饰的FGF-21多肽:例如用二甲双胍、吡格列酮、磺酰脲类、格列奈、口服噻唑烷二酮类(TZD)(如吡格列酮)、类胰高血糖素肽1(GLP-1)受体激动剂(如艾塞那肽)、DPP4抑制剂(如西他列汀、维格列汀、沙格列汀、阿格列汀、利格列汀(linagliptin)或替格列汀(teneligliptin))或组合疗法(如二甲双胍及吡格列酮、二甲双胍及磺酰脲类、二甲双胍及格列奈、二甲双胍和TZD、二甲双胍及吡格列酮、二甲双胍及GLP-1受体激动剂、二甲双胍和艾塞那肽、西他列汀及二甲双胍、西他列汀及辛伐他汀、维格列汀和二甲双胍、沙格列汀及二甲双胍、阿格列汀及吡格列酮、或利拉利汀和二甲双胍)或SGLT2抑制剂)如达格列净、卡格列净、依帕列净(empagliflozin)、伊格列净(ipragliflozin)或托格列净(tofogliflozin))治疗。

[0642] 在一些实施方案中,可施用本文公开的修饰的FGF-21多肽以预防或治疗肥胖(例如身体质量指数为至少25)。所述修饰的FGF-21多肽可与抗肥胖剂组合施用,所述抗肥胖剂

如奥利司他、利莫那班、西布曲明、肽YY(PYY,降低食欲的36个氨基酸的肽)、PYY类似物、CB-1拮抗剂、利莫那班、瘦素、瘦素类似物或苯丁胺。

[0643] 在一些实施方案中,可施用本文公开的修饰的FGF-21多肽以预防或治疗普拉德-威利综合征。

[0644] 应了解,本文所述的实施例和实施方案仅出于说明的目的,且本领域普通技术人员会想到根据其的各种修改或变化并包括在本申请案的主旨及范围以及所附权利要求书的范围内。也应了解,本文所用的术语仅出于描述例示性实施方案的目的而并不意欲限制本发明的范畴,本发明的范畴仅由所附的权利要求书限定。本申请中引用的所有出版物、专利、专利申请和/或其他文献均出于所有目的通过提述以其整体并入本文,其引用的程度就如同个体地指示将各单独的出版物、专利、专利申请案和/或其他文献通过提述并入以用于所有目的一样。

实施例

[0645] 提供如下实施例以进行说明,而非限制本发明。

[0646] 实施例1

[0647] FGF-21在大肠杆菌中的表达和纯化

[0648] 含有未修饰的或修饰的FGF-21表达构建体(其处于T7启动子控制下)的质粒转化至大肠杆菌菌株(如大肠杆菌的W3110B2菌株)中,在该菌株中T7聚合酶的表达在阿拉伯糖诱导型启动子控制下进行。可将过夜细菌培养物1:100稀释至含有2X YT培养基的摇瓶中并在37℃生长至OD^{600}为~0.8。蛋白表达可通过添加阿拉伯糖(最终为0.2%)和对-乙酰基-苯丙氨酸(pAcF)至4mM的终浓度来诱导。可将培养物温育适合的持续时间和温度,例如在37℃温育4小时。可使细胞沉淀并重悬于B-PER裂解缓冲液(Pierce)100μl/OD/ml+10μg/ml DNA酶中并在37℃温育30min。可通过离心去除细胞物质且可去除上清液。可将沉淀重悬于等量的SDS-PAGE蛋白加载缓冲液中。可将样品加载于具有MES和DTT的4-12%PAGE凝胶上。纯化FGF-21的方法是本领域普通技术人员已知的且纯化可通过SDS-PAGE、Western印迹分析、电喷雾-电离离子阱质谱分析等来确定。

[0649] 通过混合为最终10%固体将细胞浆重悬于4℃包涵体(IB)缓冲液I(50mM Tris pH 8.0;100mM NaCl;1mM EDTA;1%Triton X-100;4℃)中。通过使重悬的物质流经过微流化床装置总计两次来裂解细胞,然后将其离心(10,000g;15min;4℃)并倾析上清液。通过重悬于另一体积的IB缓冲液I(50mM Tris pH 8.0;100mM NaCl;1mM EDTA;1%Triton X-100;4℃)中来洗涤IB沉淀并使重悬的物质经过微流化床装置总计两次,然后离心(10,000g;15min;4℃)并倾析上清液。使IB沉淀重悬于一个体积的缓冲液II(50mM Tris pH 8.0;100mM NaCl;1mM EDTA;4℃)中,然后离心(10,000g;15min;4℃)并倾析上清液。然后将IB球粒重悬于1/2体积的缓冲液II(50mM Tris pH 8.0;100mM NaCl;1mM EDTA;4℃)中。将IB等分至适当容器中,然后离心(10,000g;15min;4℃)并倾析上清液。溶解包涵体(在这一点可将其以其他方式储存于-80℃直至进一步使用)。

[0650] 将包涵体溶解于溶解缓冲液(20mM Tris,pH 8.0;8M脲;10mMβ-ME)中至10至15mg/mL的终浓度并在室温在持续混合下将溶解的IB温育1小时。通过过滤(0.45μm PES过滤器)去除不可溶物质并通过用额外溶解缓冲液稀释来调节蛋白浓度(未必总是需要)(当蛋白浓

度高时)。

[0651] 再折叠可通过在20mM Tris,pH 8.0;4℃中稀释至0.5mg/mL的最终蛋白浓度来实现。允许在4℃再折叠18至24小时。

[0652] 对于纯化,可使过滤的再折叠的反应物经过0.45μM PES过滤器。物质加载于用缓冲液A(20mM Tris,pH 7.5)平衡的Q HP柱(GE Healthcare)上。在20CV中以线性梯度至100%缓冲液B(20mMTris,pH 7.5;250mM NaCl)洗脱未修饰的或修饰的FGF-21。由此可由合并的洗脱级分产生单体FGF 21。获取Q HP合并物并缓冲液交换至20mM Tris,pH 8.0;2M尿素;1mM EDTA中。用50%冰醋酸使pH值降至4.0。将样品浓缩至约4.0±1.0mg/mL。向样品中添加12:1摩尔过量的PEG和终浓度为1%的乙酰肼,pH 4.0。在28℃温育样品48-72小时。然后向PEG反应物添加最终的50mM Tris碱,并用RO水稀释10倍。证实电导率<1mS/cm且pH值在8.0-9.0。将物质加载于用缓冲液A(20mM Tris,pH 8.0)平衡的Source 30Q柱(GE Healthcare)上。在超过20CV中用线性梯度至100%B(20mM Tris,pH 8.0;100mM NaCl)洗脱PEG-FGF-21。合并PEG-FGF-21并缓冲液交换至20mM Tris,pH 7.4;150mM NaCl中。将PEG物质浓缩至1-2mg/mL并用0.22μm PES过滤器过滤灭菌。将物质储存于4℃。为延长存储,急骤冷冻且存储于-80℃。

[0653] 实施例2

[0654] 产生包含非天然编码氨基酸的修饰的FGF-21多肽的方法

[0655] 引入的包含正交tRNA(O-tRNA)和正交氨酰tRNA合成酶(O-RS)的翻译系统可用于表达含有非天然编码氨基酸的修饰的FGF-21。O-RS优先氨酰化具有非天然编码的氨基酸的O-tRNA。然后翻译系统响应于编码的选择密码子将非天然编码的氨基酸插入至FGF-21中。适合的O-RS和o-tRNA序列描述于名称为“Compositions of Aminoacyl-tRNA Synthetase and Uses Thereof”的WO 2006/068802(E9;SEQ ID NO:15)和名称为“Compositions of tRNA and Uses Thereof”的WO 2007/021297(F13;SEQ ID NO:16)中,其通过提述以其整体并入本文。例示性的O-RS和O-tRNA序列包括于下表2中。

[0656] 表2:例示性的正交tRNA(O-tRNA)和正交氨酰tRNA合成酶(O-RS)多肽及多核苷酸序列的序列标识

[0657]

SEQ ID NO: 17	*詹氏甲烷球菌(M. jannaschii)* $mtRNA_{CUA}^{Tyr}$	tRNA
SEQ ID NO: 18	*HLAD03；一种优化的琥珀抑制子tRNA*	tRNA
SEQ ID NO: 19	*HL325A；一种优化的AGGA移码抑制子tRNA*	tRNA
SEQ ID NO: 20	*用于并入对-叠氮基-L-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 p-Az-PheRS(6)*	RS
SEQ ID NO: 21	*用于并入对-苯甲酰基-L-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 p-BpaRS(1)*	RS
SEQ ID NO: 22	*用于并入炔丙基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 炔丙基-PheRS*	RS
SEQ ID NO: 23	*用于并入炔丙基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 炔丙基-PheRS*	RS
SEQ ID NO: 24	*用于并入炔丙基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 炔丙基-PheRS*	RS
SEQ ID NO: 25	*用于并入对-叠氮基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 p-Az-PheRS(1)*	RS
SEQ ID NO: 26	*用于并入对-叠氮基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 p-Az-PheRS(3)*	RS
SEQ ID NO: 27	*用于并入对-叠氮基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 p-Az-PheRS(4)*	RS
SEQ ID NO: 28	*用于并入对-叠氮基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 p-Az-PheRS(2)*	RS
SEQ ID NO: 29	*用于并入对-乙酰基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 (LW1)*	RS
SEQ ID NO: 30	*用于并入对-乙酰基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 (LW5)*	RS
SEQ ID NO: 31	*用于并入对-乙酰基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 (LW6)*	RS
SEQ ID NO: 32	*用于并入对-叠氮基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 (AzPheRS-5)*	RS
SEQ ID NO: 33	*用于并入对-叠氮基-苯丙氨酸的氨酰tRNA合成酶 (AzPheRS-6)*	RS

[0658] 表3.例示性的FGF-21、正交tRNA(O-tRNA)和正交氨酰基tRNA合成酶(O-RS)多肽和多核苷酸序列

[0659]

SEQ ID #	**序列名称**
1	没有前导子的FGF-21的氨基酸序列 (P型) HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPE SLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLE

[0660]

	DGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS
2	没有前导子的FGF-21的氨基酸序列 (P型)—带有His标签 MHHHHHHSGGHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS
3	具有前导子的FGF-21的氨基酸序列 (P型)— 具有3个亮氨酸的前导子(“209个氨基酸的P型”或“P型”) MDSDETGFEHSGLWVSVLAGLLLGACQAHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS
4	具有前导子的FGF-21的氨基酸序列 (P型)— 具有2个亮氨酸的前导子 MDSDETGFEHSGLWVSVLAGLLGACQAHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS
5	没有前导子的FGF-21的氨基酸序列(L型) His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr GIu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
6	具有前导子的FGF-21的氨基酸序列(L型) — 具有3个亮氨酸的前导子(209个氨基酸的L型) Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser

[0661]

	Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
7	具有前导子的 FGF-21的氨基酸序列(L型) —具有2个亮氨酸的前导子(208个氨基酸的L型) Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser Val Leu Ala Gly Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
8	没有前导子的FGF-21的核苷酸序列(P型) CACCCCATCCCTGACTCCAGTCCTCTCCTGCAATTCGGGGGCCAAGTC CGGCAGCGGTACCTCTACACAGATGATGCCCAGCAGACAGAAGCCCA CCTGGAGATCAGGGAGGATGGGACGGTGGGGGGCGCTGCTGACCAGA GCCCCGAAAGTCTCCTGCAGCTGAAAGCCTTGAAGCCGGGAGTTATTC AAATCTTGGGAGTCAAGACATCCAGGTTCCTGTGCCAGCGGCCAGATG GGGCCCTGTATGGATCGCTCCACTTTGACCCTGAGGCCTGCAGCTTCC GGGAGCTGCTTCTTGAGGACGGATACAATGTTTACCAGTCCGAAGCCC ACGGCCTCCCGCTGCACCTGCCAGGGAACAAGTCCCCACACCGGGAC CCTGCACCCCGAGGACCAGCTCGCTTCCTGCCACTACCAGGCCTGCCC CCCGCACCCCCGGAGCCACCCGGAATCCTGGCCCCCCAGCCCCCCGAT GTGGGCTCCTCGGACCCTCTGAGCATGGTGGGACCTTCCCAGGGCCGA AGCCCCAGCTACGCTTCCTGA
9	没有前导子的FGF-21的核苷酸序列 (P型)—带His标签 ATGCATCATCATCATCATCATAGCGGCGGCCACCCCATCCCTGACTCC AGTCCTCTCCTGCAATTCGGGGGCCAAGTCCGGCAGCGGTACCTCTAC ACAGATGATGCCCAGCAGACAGAAGCCCACCTGGAGATCAGGGAGGA TGGGACGGTGGGGGGCGCTGCTGACCAGAGCCCCGAAAGTCTCCTGC AGCTGAAAGCCTTGAAGCCGGGAGTTATTCAAATCTTGGGAGTCAAG

[0662]

	ACATCCAGGTTCCTGTGCCAGCGGCCAGATGGGGCCCTGTATGGATCG CTCCACTTTGACCCTGAGGCCTGCAGCTTCCGGGAGCTGCTTCTTGAG GACGGATACAATGTTTACCAGTCCGAAGCCCACGGCCTCCCGCTGCAC CTGCCAGGGAACAAGTCCCCACACCGGGACCCTGCACCCCGAGGACC AGCTCGCTTCCTGCCACTACCAGGCCTGCCCCCCGCACCCCCGGAGCC ACCCGGAATCCTGGCCCCCCAGCCCCCCGATGTGGGCTCCTCGGACCC TCTGAGCATGGTGGGACCTTCCCAGGGCCGAAGCCCCAGCTACGCTTC CTGA
10	具有前导子的FGF-21的核苷酸序列(P型)— 具有3个亮氨酸的前导子 ATGGACTCGGACGAGACCGGGTTCGAGCACTCAGGACTGTGGGTTTCT GTGCTGGCTGGTCTTCTGCTGGGAGCCTGCCAGGCACACCCCATCCCT GACTCCAGTCCTCTCCTGCAATTCGGGGGCCAAGTCCGGCAGCGGTAC CTCTACACAGATGATGCCCAGCAGACAGAAGCCCACCTGGAGATCAG GGAGGATGGGACGGTGGGGGGCGCTGCTGACCAGAGCCCCGAAAGTC TCCTGCAGCTGAAAGCCTTGAAGCCGGGAGTTATTCAAATCTTGGGAG TCAAGACATCCAGGTTCCTGTGCCAGCGGCCAGATGGGGCCCTGTATG GATCGCTCCACTTTGACCCTGAGGCCTGCAGCTTCCGGGAGCTGCTTC TTGAGGACGGATACAATGTTTACCAGTCCGAAGCCCACGGCCTCCCGC TGCACCTGCCAGGGAACAAGTCCCCACACCGGGACCCTGCACCCCGA GGACCAGCTCGCTTCCTGCCACTACCAGGCCTGCCCCCCGCACCCCCG GAGCCACCCGGAATCCTGGCCCCCCAGCCCCCCGATGTGGGCTCCTCG GACCCTCTGAGCATGGTGGGACCTTCCCAGGGCCGAAGCCCCAGCTAC GCTTCCTGA
11	具有前导子的FGF-21的核苷酸序列 (P型)— 具有2个亮氨酸的前导子 ATGGACTCGGACGAGACCGGGTTCGAGCACTCAGGACTGTGGGTTTCT GTGCTGGCTGGTCTTCTGGGAGCCTGCCAGGCACACCCCATCCCTGAC TCCAGTCCTCTCCTGCAATTCGGGGGCCAAGTCCGGCAGCGGTACCTC TACACAGATGATGCCCAGCAGACAGAAGCCCACCTGGAGATCAGGGA GGATGGGACGGTGGGGGGCGCTGCTGACCAGAGCCCCGAAAGTCTCC TGCAGCTGAAAGCCTTGAAGCCGGGAGTTATTCAAATCTTGGGAGTCA AGACATCCAGGTTCCTGTGCCAGCGGCCAGATGGGGCCCTGTATGGAT CGCTCCACTTTGACCCTGAGGCCTGCAGCTTCCGGGAGCTGCTTCTTG AGGACGGATACAATGTTTACCAGTCCGAAGCCCACGGCCTCCCGCTGC ACCTGCCAGGGAACAAGTCCCCACACCGGGACCCTGCACCCCGAGGA CCAGCTCGCTTCCTGCCACTACCAGGCCTGCCCCCCGCACCCCCGGAG CCACCCGGAATCCTGGCCCCCCAGCCCCCCGATGTGGGCTCCTCGGAC CCTCTGAGCATGGTGGGACCTTCCCAGGGCCGAAGCCCCAGCTACGCT TCCTGA
12	没有前导子的FGF-21的核苷酸序列 (L型)

[0663]

	CACCCCATCCCTGACTCCAGTCCTCTCCTGCAATTCGGGGCCAAGTCC GGCAGCGGTACCTCTACACAGATGATGCCCAGCAGACAGAAGCCCAC CTGGAGATCAGGGAGGATGGGACGGTGGGGGGCGCTGCTGACCAGAG CCCCGAAAGTCTCCTGCAGCTGAAAGCCTTGAAGCCGGGAGTTATTCA AATCTTGGGAGTCAAGACATCCAGGTTCCTGTGCCAGCGGCCAGATGG GGCCCTGTATGGATCGCTCCACTTTGACCCTGAGGCCTGCAGCTTCCG GGAGCTGCTTCTTGAGGACGGATACAATGTTTACCAGTCCGAAGCCCA CGGCCTCCCGCTGCACCTGCCAGGGAACAAGTCCCCACACCGGGACCC TGCACCCCGAGGACCAGCTCGCTTCCTGCCACTACCAGGCCTGCCCCC CGCACTCCCGGAGCCACCCGGAATCCTGGCCCCCCAGCCCCCCGATGT GGGCTCCTCGGACCCTCTGAGCATGGTGGGACCTTCCCAGGGCCGAAG CCCAGCTACGCTTCCTGA
13	具有前导子的FGF-21的核苷酸序列 (L型) - 具有3个亮氨酸的前导子 ATG GAC TCG GAC GAG ACC GGG TTC GAG CAC TCA GGA CTG TGG GTT TCT GTG CTG GCT GGT CTT CTG CTG GGA GCC TGC CAG GCA CAC CCC ATC CCT GAC TCC AGT CCT CTC CTG CAA TTC GGG GGC CAA GTC CGG CAG CGG TAC CTC TAC ACA GAT GAT GCC CAG CAG ACA GAA GCC CAC CTG GAG ATC AGG GAG GAT GGG ACG GTG GGG GGC GCT GCT GAC CAG AGC CCC GAA AGT CTC CTG CAG CTG AAA GCC TTG AAG CCG GGA GTT ATT CAA ATC TTG GGA GTC AAG ACA TCC AGG TTC CTG TGC CAG CGG CCA GAT GGG GCC CTG TAT GGA TCG CTC CAC TTT GAC CCT GAG GCC TGC AGC TTC CGG GAG CTG CTT CTT GAG GAC GGA TAC AAT GTT TAC CAG TCC GAA GCC CAC GGC CTC CCG CTG CAC CTG CCA GGG AAC AAG TCC CCA CAC CGG GAC CCT GCA CCC CGA GGA CCA GCT CGC TTC CTG CCA CTA CCA GGC CTG CCC CCC GCA CTC CCG GAG CCA CCC GGA ATC CTG GCC CCC CAG CCC CCC GAT GTG GGC TCC TCG GAC CCT CTG AGC ATG GTG GGA CCT TCC CAG GGC CGA AGC CCC AGC TAC GCT TCC TGA
14	具有前导子的FGF-21的核苷酸序列 (L型) - 具有2个亮氨酸的前导子 ATG GAC TCG GAC GAG ACC GGG TTC GAG CAC TCA GGA CTG TGG GTT TCT GTG CTG GCT GGT CTT CTG GGA GCC TGC CAG GCA CAC CCC ATC CCT GAC TCC AGT CCT CTC CTG CAA TTC GGG GGC CAA GTC CGG CAG CGG TAC CTC TAC ACA GAT GAT GCC CAG CAG ACA GAA GCC CAC CTG GAG ATC AGG GAG GAT GGG ACG GTG GGG GGC GCT GCT GAC CAG AGC CCC GAA AGT CTC CTG CAG CTG AAA GCC TTG AAG CCG GGA GTT ATT CAA ATC TTG GGA GTC AAG ACA TCC AGG TTC CTG TGC CAG CGG CCA GAT GGG GCC CTG TAT GGA TCG CTC CAC TTT GAC CCT GAG GCC TGC AGC TTC CGG GAG CTG CTT CTT GAG GAC GGA TAC AAT GTT TAC CAG TCC GAA GCC CAC GGC

	CTC CCG CTG CAC CTG CCA GGG AAC AAG TCC CCA CAC CGG GAC CCT GCA CCC CGA GGA CCA GCT CGC TTC CTG CCA CTA CCA GGC CTG CCC CCC GCA CTC CCG GAG CCA CCC GGA ATC CTG GCC CCC CAG CCC CCC GAT GTG GGC TCC TCG GAC CCT CTG AGC ATG GTG GGA CCT TCC CAG GGC CGA AGC CCC AGC TAC GCT TCC TGA
34	FGF-21的氨基酸序列 (褐家鼠(*Rattus norvegicus*) - ref|NP_570108.1|[18543365]) Met Asp Trp Met Lys Ser Arg Val Gly Ala Pro Gly Leu Trp Val Cys Leu Leu Leu Pro Val Phe Leu Leu Gly Val Cys Glu Ala Tyr Pro Ile Ser Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Asp Gln Asp Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Val Gly Thr Ala His Arg Ser Pro Glu Ser Leu Leu Glu Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Ala Ser Arg Phe Leu Cys Gln Gln Pro Asp Gly Thr Leu Tyr Gly Ser Pro His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Lys Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu Arg Leu Pro Gln Lys Asp Ser Gln Asp Pro Ala Thr Arg Gly Pro Val Arg Phe Leu Pro Met Pro Gly Leu Pro His Glu Pro Gln Glu Gln Pro Gly Val Leu Pro Pro Glu Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Leu Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
35	FGF-21的氨基酸序列 (小鼠(Mus musculus) - ref|NP_064397.1|[9910218]) Met Glu Trp Met Arg Ser Arg Val Gly Thr Leu Gly Leu Trp Val Arg Leu Leu Leu Ala Val Phe Leu Leu Gly Val Tyr Gln Ala Tyr Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Asp Gln Asp Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Val Gly Ala Ala His Arg Ser Pro Glu Ser Leu Leu Glu Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Ala Ser Arg Phe Leu Cys Gln Gln Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Pro His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu Arg Leu Pro Gln Lys Asp Ser Pro Asn Gln Asp Ala Thr Ser Trp Gly Pro Val Arg Phe Leu Pro Met Pro Gly Leu Leu His Glu Pro Gln Asp Gln Ala Gly Phe Leu Pro Pro Glu Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Leu Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
36	FGF-21的氨基酸序列 (斑马鱼(Danio rerio) -ref|NP_001038789.1|[113671792]) Met Leu Phe Ala Cys Phe Phe Ile Phe Phe Ala Leu Phe Pro His Leu Arg Trp Cys Met Tyr Val Pro Ala Gln Asn Val Leu Leu Gln Phe Gly Thr Gln Val Arg Glu Arg Leu Leu Tyr Thr Asp Gly Leu Phe Leu Glu Met Asn Pro Asp Gly Ser Val Lys Gly Ser Pro Glu Lys Asn Leu Asn Cys Val Leu Glu Leu Arg Ser Val Lys Ala Gly Glu Thr Val Ile Gln Ser Ala Ala Thr Ser Leu Tyr Leu Cys Val Asp Asp Gln Asp Lys Leu Lys Gly Gln His His Tyr Ser Ala Leu Asp Cys Thr Phe Gln Glu Leu Leu Leu Asp Gly Tyr Ser Phe Phe Leu Ser Pro His Thr Asn Leu Pro Val Ser Leu

[0664]

[0665]

	Leu Ser Lys Arg Gln Lys His Gly Asn Pro Leu Ser Arg Phe Leu Pro Val Ser Arg Ala Glu Asp Ser Arg Thr Gln Glu Val Lys Gln Tyr Ile Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ser Asp Asp Pro Leu Gly Met Gly His Arg Ser His Leu Gln Thr Val Phe Ser Pro Ser Leu His Thr Lys Lys
37	Klotho β的氨基酸序列 (人(Homo sapiens) - ref|NP_783864.1|[28376633]) MKPGCAAGSPGNEWIFFSTDEITTRYRNTMSNGGLQRSVILSALILLRAVT GFSGDGRAIWSKNPNFTPVNESQLFLYDTFPKNFFWGIGTGALQVEGSWK KDGKGPSIWDHFIHTHLKNVSSTNGSSDSYIFLEKDLSALDFIGVSFYQFSI SWPRLFPDGIVTVANAKGLQYYSTLLDALVLRNIEIVTLYHWDLPLALQE KYGGWKNDTIIDIFNDYATYCFQMFGDRVKYWITIHNPYLVAWHGYGTG MHAPGEKGNLAAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYNTHFRPHQKGWLSITLG SHWIEPNRSENTMDIFKCQQSMVSVLGWFANPIHGDGDYPEGMRKKLFS VLPIFSEAEKHEMRGTADFFAFSFGPNNFKPLNTMAKMGQNVSLNLREAL NWIKLEYNNPRILIAENGWFTDSRVKTEDTTAIYMMKNFLSQVLQAIRLD EIRVFGYTAWSLLDGFEWQDAYTIRRGLFYVDFNSKQKERKPKSSAHYY KQIIRENGFSLKESTPDVQGQFPCDFSWGVTESVLKPESVASSPQFSDPHL YVWNATGNRLLHRVEGVRLKTRPAQCTDFVNIKKQLEMLARMKVTHYR FALDWASVLPTGNLSAVNRQALRYYRCVVSEGLKLGISAMVTLYYPTHA HLGLPEPLLHADGWLNPSTAEAFQAYAGLCFQELGDLVKLWITINEPNRL SDIYNRSGNDTYGAAHNLLVAHALAWRLYDRQFRPSQRGAVSLSLHAD WAEPANPYADSHWRAAERFLQFEIAWFAEPLFKTGDYPAAMREYIASKH RRGLSSSALPRLTEAERRLLKGTVDFCALNHFTTRFVMHEQLAGSRYDSD RDIQFLQDITRLSSPTRLAVIPWGVRKLLRWVRRNYGDMDIYITASGIDDQ ALEDDRLRKYYLGKYLQEVLKAYLIDKVRIKGYYAFKLAEEKSKPRFGFF TSDFKAKSSIQFYNKVISSRGFPFENSSSRCSQTQENTECTVCLFLVQKKPL IFLGCCFFSTLVLLLSIAIFQRQKRRKFWKAKNLQHIPLKKGKRVVS
38	Klotho β的氨基酸序列 (小鼠 - refNP_112457.1 GI:13626032) MKTGCAAGSPGNEWIFFSSDERNTRSRKTMSNRALQRSAVLSAFVLLRA VTGFSGDGKAIWDKKQYVSPVNPSQLFLYDTFPKNFSWGVGTGAFQVEG SWKTDGRGPSIWDRYVYSHLRGVNGTDRSTDSYIFLEKDLLALDFLGVSF YQFSISWPRLFPNGTVAAVNAQGLRYYRALLDSLVLRNIEPIVTLYHWDL PLTLQEEYGGWKNATMIDLFNDYATYCFQTFGDRVKYWITIHNPYLVAW HGFGTGMHAPGEKGNLTAVYTVGHNLIKAHSKVWHNYDKNFRPHQKG WLSITLGSHWIEPNRTDNMEDVINCQHSMSSVLGWFANPIHGDGDYPEF MKTGAMIPEFSEAEKEEVRGTADFFAFSFGPNNFRPSNTVVKMGQNVSLN LRQVLNWIKLEYDDPQILISENGWFTDSYIKTEDTTAIYMMKNFLNQVLQ AIKFDEIRVFGYTAWTLLDGFEWQDAYTTRRGLFYVDFNSEQKERKPKSS AHYYKQIIQDNGFPLKESTPDMKGRFPCDFSWGVTESVLKPEFTVSSPQFT DPHLYVWNVTGNRLLYRVEGVRLKTRPSQCTDYVSIKKRVEMLAKMKV

[0666]

	THYQFALDWTSILPTGNLSKVNRQVLRYYRCVVSEGLKLGVFPMVTLYH PTHSHLGLPLPLLSSGGWLNMNTAKAFQDYAELCFRELGDLVKLWITINE PNRLSDMYNRTSNDTYRAAHNLMIAHAQVWHLYDRQYRPVQHGAVSLS LHCDWAEPANPFVDSHWKAAERFLQFEIAWFADPLFKTGDYPSVMKEYI ASKNQRGLSSSVLPRFTAKESRLVKGTVDFYALNHFTTRFVIHKQLNTNR SVADRDVQFLQDITRLSSPSRLAVTPWGVRKLLAWIRRNYRDRDIYITAN GIDDLALEDDQIRKYYLEKYVQEALKAYLIDKVKIKGYYAFKLTEEKSKP RFGFFTSDFRAKSSVQFYSKLISSSGLPAENRSPACGQPAEDTDCTICSFLV EKKPLIFFGCCFISTLAVLLSITVFHHQKRRKFQKARNLQ NIPLKKGHSRVFS
39	OmpA核苷酸前导序列 atgaaaaaaactgctatcgcgatcgctgtagctctggctggtttcgcgaccgtagctaacgct
40	OmpA氨基酸前导序列 M K K T A I A I A V A L A G F A T V A N A
41	MalE核苷酸前导序列 atgaaaataaaaacaggtgcacgcatcctcgcattatccgcattaacgacgatgatgttttccgcctcggctctcgcc
42	MalE氨基酸前导序列 M K I K T G A R I L A L S A L T T M M F S A S A L A
43	StII核苷酸前导序列 atgaaaaagaatatcgcatttcttcttgcatctatgttcgtttttttctattgctacaaatgcctatgca
44	StII氨基酸前导序列 M K K N I A F L L A S M F V F S I A T N A Y A

[0667] 用含有修饰的FGF-21基因和正交氨酰tRNA合成酶/tRNA对(特异性针对所需的非天然编码的氨基酸)的质粒转化大肠杆菌允许非天然编码的氨基酸位点特异性并入修饰的FGF-21多肽中。

[0668] 野生型成熟FGF-21可通过PCR由cDNA合成反应扩增,例如使用标准方案来源于健康人肝脏多聚A+mRNA(Biochain)并克隆至如pET30的载体中(例如利用NcoI-BamHI裂解位点)。在任选进行的序列确认之后,可对FGF-21(其可包括纯化标签,如N末端HHHHHHSGG序列)进行亚克隆。例如,可将FGF-21亚克隆至含有来自詹氏甲烷球菌(Methanococcus jannaschii)(Mj $tRNA^{Tyr/CUA}$)的琥珀抑制子酪氨酰基$tRNA^{Tyr/CUA}$的抑制载体中,并连接至适合启动子,例如在衍生自大肠杆菌脂蛋白启动子序列的合成启动子的组成性控制下(Miller,J.H.,Gene,1986),以及在大肠杆菌GlnRS启动子控件下的正交酪氨酰基-tRNA-合成酶(MjTyrRS)。未修饰的或修饰的FGF-21多肽的表达在T7启动子的控制下。可使用标准快速变化突变方案引入琥珀突变(Stratagene;La Jolla,California)。可对构建体进行序列验证。

[0669] 可通过在核酸内的两个不同位点引入选择密码子将两个不同的非天然编码氨基酸引入修饰的FGF-21多肽中。

[0670] 用对-乙酰基-苯丙氨酸(pAcF)抑制

[0671] 可将含有修饰的FGF-21表达构建体和O-tRNA及O-RS表达构建体的质粒(其可处于

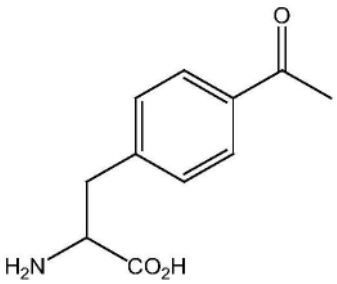
相同或不同的质粒中或稳定转染至菌株中)转化至大肠杆菌的W3110B2菌株中,其中T7聚合酶的表达在阿拉伯糖诱导性启动子的控制下。可将过夜细菌培养物1:100稀释至含有2×YT培养基的摇瓶中且在37℃生长至~0.8的OD_{600}。蛋白表达可通过添加阿拉伯糖(最终为0.2%)和对-乙酰基-苯丙氨酸(pAcF)至4mM的终浓度来诱导。可将培养物温育适合的持续时间和温度,例如在37℃温育4小时。可将细胞沉淀并重悬于B-PER溶解缓冲液(Pierce)100μl/OD/ml+10μg/ml DNA酶中并在37℃温育30min。可通过离心去除细胞物质并可去除上清液。可使沉淀重悬于等量SDS-PAGE蛋白加载缓冲液中。可将样品加载于具有MES和DTT的4-12%PAGE凝胶上。纯化FGF-21的方法是本领域普通技术人员已知的且纯化可通过SDS-PAGE、Western印迹分析、电喷雾-电离离子阱质谱分析等来确定。

[0672] His标记或非His标记的突变体FGF-21蛋白可用本领域普通技术人员已知的方法来纯化。例如,ProBond镍-螯合树脂(Invitrogen,Carlsbad,CA)可通过制造商提供的标准His标记蛋白纯化程序来使用。

[0673] 实施例3

[0674] 将含羰基的氨基酸引入至修饰的FGF-21多肽中以及随后与含氨基氧基的PEG反应

[0675] 如下的例示性方法可用于产生连接至半衰期延长部分的修饰的FGF-21多肽。该方法并入了含酮的非天然编码氨基酸,其随后与半衰期延长部分(如具有约30,000Da的分子量的含氨基氧基的PEG)反应。所选的FGF-21残基用具有如下结构的非天然编码的氨基酸取代:

[0676] 

[0677] 用于将对-乙酰基-苯丙氨酸位点特异性并入至FGF-21中的序列可为SEQ ID NO:1(FGF-21)、SEQ ID NO:16或17(muttRNA,詹氏甲烷球菌(M.jannaschii)$\mathbf{mtRNA}^{\mathbf{Tyr}}_{\mathbf{CUA}}$)、15、29、30或31(TyrRS LW1、5或6)或本文所述的任何修饰的FGF-21多肽。

[0678] 一经修饰,包含含羰基氨基酸的FGF-21多肽即与下式的含氨基氧基PEG衍生物反应:

[0679] R-PEG(N)-O-$(CH_2)_n$-O-NH_2

[0680] 其中R是甲基,n是3且N为所选分子量,例如约30,000Da。

[0681] 或者,含酮的非天然编码氨基酸可连接至具有如下结构的PEG试剂:

[0682] R-PEG(N)-O-$(CH_2)_2$-NH-C(O)$(CH_2)_n$-O-NH_2

[0683] 其中R=甲基,n=4且N为所选分子量,例如约30,000Da。

[0684] 使以10mg/mL溶解于25mM MES(Sigma Chemical,St.Louis,MO)pH6.0、25mM Hepes(Sigma Chemical,St.Louis,MO)pH 7.0或10mM乙酸钠(Sigma Chemical,St.Louis,MO)pH 4.5中的纯化的含对-乙酰基-苯丙氨酸的修饰的FGF-21与10至100倍过量的含氨基氧基的PEG反应,然后在室温搅拌10-16小时(Jencks,W.J.Am.Chem.Soc.1959,81,pp 475)。然后将PEG-FGF-21稀释于适当缓冲液中用于立即纯化及分析。

[0685] 实施例4

[0686] 修饰的FGF-21多肽的生产

[0687] 生产了编码如图1A-B所示的各个修饰的FGF-21多肽的多核苷酸。使用本领域已知的标准方法将多核苷酸序列中的DNA密码子使用针对大肠杆菌表达进行优化(SEQ ID NO:317和318分别为编码化合物2和聚乙二醇化的化合物2的例示性多核苷酸序列)。若存在连接肽,则其编码序列基于如下的标准遗传密码加以选择:例如对于甘氨酸而言是GGU、GGC、GGA或GGG、对于丝氨酸而言是UCU、UCC、UCA、UCG、AGU或AGC、对于组氨酸而言是CAU或CAC等。在大肠杆菌中表达修饰的FGF-21多肽并加以纯化(本文中描述了例示性方法)。生产了含有非天然编码氨基酸对-乙酰基-苯丙氨酸(缩写为pACF或pAF)的修饰的FGF-21多肽(实施例2中提供了例示性方法)。简言之,进一步修饰编码多核苷酸以在多核苷酸序列中的对应位置并入有选择密码子以编码pACF,并在经工程化以表达正交tRNA(O-tRNA)和正交氨酰tRNA合成酶(O-RS)的细胞中表达,从而使选择密码子在所选位置处指向包括pACF。然后使pACF连接至平均分子量为约30kDa的聚(乙二醇)(PEG)(实施例3中所提供了例示性方法)。

[0688] 化合物2编码序列(SEQ ID NO:317)

```
      M   H   P   I   P   D   S   S   P   L   L   Q   F   G   G   Q   V   R   Q   R
    1 ATG CAT CCT ATT CCT GAT TCT TCT CCT CTG CTG CAA TTT GGG GGT CAG GTG CGC CAA CGT
      Y   L   Y   T   D   D   A   Q   Q   T   E   A   H   L   E   I   R   E   D   G
   61 TAC CTG TAC ACC GAC GAT GCG CAA CAG ACT GAG GCT CAC CTG GAG ATC CGT GAG GAC GGG
      T   V   G   G   A   A   D   Q   S   P   E   S   L   L   Q   L   K   A   L   K
  121 ACT GTC GGA GGG GCT GCC GAT CAA TCC CCA GAG TCA CTG CTG CAA CTG AAA GCC CTG AAG
      P   G   V   I   Q   I   L   G   V   K   T   S   R   F   L   C   Q   R   P   D
  181 CCT GGG GTC ATT CAG ATC CTG GGC GTA AAG ACG AGT CGT TTC CTG TGC CAA CGT CCT GAC
      G   A   L   Y   G   S   L   H   F   D   P   E   A   C   S   F   R   E   L   L
```

[0689]

```
  241 GGG GCA CTG TAT GGC TCG CTG CAT TTT GAT CCT GAG GCT TGT AGT TTT CGC GAA CTG CTG
      L   E   D   G   Y   N   V   Y   Q   S   E   A   H   G   L   P   L   H   L   G
  301 CTG GAA GAT GGT TAC AAT GTG TAT CAG AGT GAA GCA CAC GGT CTG CCT CTG CAC CTG GGT
      S   G   R   G   P   A   R   F   L   P   L   P   G   L   P   P   A   P   P   E
  361 TCT GGT CGT GGT CCG GCG CGT TTT CTG CCA CTG CCT GGC CTG CCT CCA GCA CCA CCT GAA
      P   P   G   I   L   A   P   Q   P   P   D   V   G   S   S   D   P   L   S   M
  421 CCA CCG GGT ATT CTG GCT CCG CAA CCT CCA GAC GTC GGG AGT TCA GAT CCT CTG TCG ATG
      V   E   P   S   Q   G   R   S   P   S   Y   A   S
  481 GTA GAA CCG TCA CAA GGT CGC TCT CCT AGT TAC GCG TCA
```

[0690] 聚乙二醇化的化合物2编码序列(SEQ ID NO:318)

[0691]

```
          M   H   P   I   P   D   S   S   P   L   L   Q   F   G   G   Q   V   R   Q   R
    1 ATG CAT CCT ATT CCT GAT TCT TCT CCT CTG CTG CAA TTT GGG GGT CAG GTG CGC CAA CGT
          Y   L   Y   T   D   D   A   Q   Q   T   E   A   H   L   E   I   R   E   D   G
   61 TAC CTG TAC ACC GAC GAT GCG CAA CAG ACT GAG GCT CAC CTG GAG ATC CGT GAG GAC GGG
          T   V   G   G   A   A   D   Q   S   P   E   S   L   L   Q   L   K   A   L   K
  121 ACT GTC GGA GGG GCT GCC GAT CAA TCC CCA GAG TCA CTG CTG CAA CTG AAA GCC CTG AAG
          P   G   V   I   Q   I   L   G   V   K   T   S   R   F   L   C   Q   R   P   D
  181 CCT GGG GTC ATT CAG ATC CTG GGC GTA AAG ACG AGT CGT TTC CTG TGC CAA CGT CCT GAC
          G   A   L   Y   G   S   L   H   F   D   P   E   A   C   S   F   R   E   L   L
  241 GGG GCA CTG TAT GGC TCG CTG CAT TTT GAT CCT GAG GCT TGT AGT TTT CGC GAA CTG CTG
```

[0692]

```
          L   E   D   G   Y   N   V   Y  pAF  S   E   A   H   G   L   P   L   H   L   G
  301 CTG GAA GAT GGT TAC AAT GTG TAT TAG AGT GAA GCA CAC GGT CTG CCT CTG CAT CTG GGC
          S   G   R   G   P   A   R   F   L   P   L   P   G   L   P   P   A   P   P   E
  361 TCC GGC CGC GGT CCG GCC CGT TTT CTG CCA CTG CCT GGC CTG CCT CCA GCA CCA CCT GAA
          P   P   G   I   L   A   P   Q   P   P   D   V   G   S   S   D   P   L   S   M
  421 CCA CCG GGT ATT CTG GCT CCG CAA CCT CCA GAC GTC GGG AGT TCA GAT CCT CTG TCG ATG
          V   E   P   S   Q   G   R   S   P   S   Y   A   S
  481 GTA GAA CCG TCA CAA GGT CGC TCT CCT AGT TAC GCG TCA
```

[0693] 如下文实施例中所详述的,进一步表征修饰的FGF-21多肽,包括测试糖尿病模型中的体外生物活性、稳定性、脱酰胺化及聚集体形成的倾向、对体内蛋白水解的抗性、免疫原性、药代动力学和体内生物活性。

[0694] 生产的修饰的FGF-21多肽的完整多肽序列(其部分序列示于图1A-B中)如下:

[0695] 化合物1

[0696] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLP PAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:101)

[0697] 化合物2

[0698] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGI LAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:102)

[0699] 化合物3

[0700] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLP PAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:103)

[0701] 化合物4

[0702] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGKKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLP PAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:104)

[0703] 化合物5

[0704] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGDKSRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:105)

[0705] 化合物6

[0706] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGHKSRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:106)

[0707] 化合物7

[0708] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGDKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLP PAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:107)

[0709] 化合物8

[0710] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGARFLPLPGLPPAPPEPPGILAP QPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:108)

[0711] 化合物9

[0712] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGQKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLP PAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:109)

[0713] 化合物10

[0714] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGGPARFLPLPGLPPAPPEPPGIL APQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:110)

[0715] 化合物11

[0716] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAP PEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:111)

[0717] 化合物12

[0718] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPHHSGRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:112)

[0719] 化合物13

[0720] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGKDSQDPAPRGPARFLPLPGLPPA

PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:113)

[0721] 化合物14

[0722] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGHKSRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:114)

[0723] 化合物15

[0724] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGHKSRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGREPSYAS(SEQ ID NO:115)

[0725] 化合物16

[0726] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGHKSRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:116)

[0727] 化合物17

[0728] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGHKSRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:117)

[0729] 化合物18

[0730] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLP PAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEP(SEQ ID NO:118)

[0731] 化合物19

[0732] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:119)

[0733] 化合物20

[0734] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGGHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPP EPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:120)

[0735] 化合物21

[0736] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPP EPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:121)

[0737] 化合物22

[0738] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLSGGPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP PGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:122)

[0739] 化合物23

[0740] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG

VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGGGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILA PQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:123)

[0741] 化合物24

[0742] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGGRFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQ PPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:124)

[0743] 化合物25

[0744] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPSGGRFLPLPGLPPAPPEPPGILAP QPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:125)

[0745] 化合物26

[0746] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHSGGPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPP GILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:126)

[0747] 化合物27

[0748] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHGSGGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILA PQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:127)

[0749] 化合物28

[0750] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPHGGRFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPD VGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:128)

[0751] 化合物29

[0752] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPHSGGRFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPP DVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:129)

[0753] 化合物30

[0754] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPHGSGRFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPP DVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:130)

[0755] 化合物31

[0756] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGGPARFLPLPGLPPAPPEPPGIL APQPPDVGSSDPLSMVTPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:131)

[0757] 化合物32

[0758] MHHHHHHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGV IQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLP LPGLPPALPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:132)

[0759] 聚乙二醇化的化合物1

[0760] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPL PGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:201)

[0761] 聚乙二醇化的化合物2

[0762] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPE PPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:202)

[0763] 聚乙二醇化的化合物5

[0764] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGDKSRDPAPRGPARFLPLPG LPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:205)

[0765] 聚乙二醇化的化合物6

[0766] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGHKSRDPAPRGPARFLPLPG LPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:206)

[0767] 聚乙二醇化的化合物10

[0768] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLGSGGPARFLPLPGLPPAPPEP PGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:210)

[0769] 聚乙二醇化的化合物11

[0770] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLGSGHRDPAPRGPARFLPLPGL PPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:211)

[0771] 聚乙二醇化的化合物12

[0772] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPHHSGRDPAPRGPARFLPLPG LPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:212)

[0773] 聚乙二醇化的化合物19

[0774] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLGSGPHRDPAPRGPARFLPLPG LPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:219)

[0775] 聚乙二醇化的化合物20

[0776] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLGGHRDPAPRGPARFLPLPGLP PAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:220)

[0777] 聚乙二醇化的化合物21

[0778] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLGSGRDPAPRGPARFLPLPGLP PAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:221)

[0779] 聚乙二醇化的化合物22

[0780] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLSGGPAPRGPARFLPLPGLPPA PPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:222)

[0781] 聚乙二醇化的化合物23

[0782] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILG VKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLGGGPARFLPLPGLPPAPPEPP GILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:223)

[0783] 其他修饰的FGF-21多肽生产成融合蛋白。一些修饰的FGF-21多肽含有化合物2(有或无N末端甲硫氨酸)的序列(SEQ ID NO:102),其融合至一种或多种融合配偶体(如Fc域或其片段、PKE Adnectin(“PKE”)、或修饰的或未修饰的人血清白蛋白(“HSA”)序列和任选的连接肽)。其他修饰的FGF-21多肽基于化合物1的野生型序列(有或无N末端甲硫氨酸)。包括不同PKE Adnectin序列形式。这些形式称为“PKE(1)”或“PKEI”和“PKE(2)”或PKEII。

[0784] PKE(1)的氨基酸序列为

[0785] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQ(SEQ ID NO:319)。PKE(2)的氨基酸序列为

[0786] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTP(SEQ ID NO:320)。当在融合蛋白的N末端包括PKE(1)或PKE(2)时,表达于大肠杆菌中的序列包括N末端甲硫氨酸,预期其在表达于大肠杆菌中时被met外肽酶裂解,产生无N末端甲硫氨酸的成熟序列;如下列表中显示了预期的无N末端甲硫氨酸的PKE融合蛋白的成熟形式。

[0787] 一些融合蛋白中含有的人血清白蛋白序列为HuSA(C34A)。其氨基酸序列为:

[0788] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL(SEQ ID NO:321)。

[0789] 一些融合蛋白中含有的另一人血清白蛋白序列为HAS(C34A,des Leu-585)。其氨基酸序列为:

[0790] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK

KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALG(SEQ ID NO:322)。

[0791] G4Sx3是指序列GGGGS重复3次,即GGGGSGGGGSGGGGS。

[0792] 例示性的融合蛋白含有多于一个的修饰的FGF-21多肽,例如化合物141-146。

[0793] 融合蛋白化合物的序列显示如下,且这些融合蛋白的特征概述于图40A-C中。

[0794] 化合物101:PKE(2)-L1-FGF21(化合物2)

[0795] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDG TVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLP LHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:401)

[0796] 化合物102:PKE(2)-L2-FGF21(化合物2)

[0797] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIR EDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAH GLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:402)

[0798] 化合物103:PKE(2)-L3-FGF21(化合物2)

[0799] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPEEEEDEEEEDHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEA HLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY QSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO: 403)

[0800] 化合物104:PKE(2)-L4-FGF21(化合物2)

[0801] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEA HLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY QSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO: 404)

[0802] 化合物105:PKE(2)-L5-FGF21(化合物2)

[0803] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPGSHHHHHHHHHGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQT EAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYN VYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:405)

[0804] 化合物106:PKE(2)-L6-FGF21(化合物2)

[0805] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDA QQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLED GYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:406)

[0806] 化合物107:PKE(2)-L7-FGF21(化合物2)

[0807] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPGGGGGSGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDA QQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLED GYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:407)

[0808] 化合物108:PKE(2)-L8-FGF21(化合物2)

[0809] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPGSGSGSGSGSGSGSGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDD AQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLE DGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:408)

[0810] 化合物109:PKE(2)-L9-FGF21(化合物2)

[0811] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSTPPTPSPSTPPTPSPSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYT DDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELL LEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:409)

[0812] 化合物110:PKE(2)-L10-FGF21(化合物2)

[0813] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPHPIPDSSPLLQFGGQVRQ RYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACS FRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSY AS(SEQ ID NO:410)

[0814] 化合物111:PKE(2)-L11-FGF21(化合物2)

[0815] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQV RQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEA CSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSP SYAS(SEQID NO:411)

[0816] 化合物112:PKE(2)-L12-FGF21(化合物2)

[0817] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQ FGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLH FDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPS QGRSPSYAS(SEQID NO:412)

[0818] 化合物113:PKE(2)-L13-FGF21(化合物2)

[0819] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSTPPTPSPSTPPTPSPSTPPTPSPSTPPTPSPSHPIPD SSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGA

LYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPL SMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:413)

[0820] 化合物114:PKE(2)-L14-FGF21(化合物2)

[0821] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIR EDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAH GLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:414)

[0822] 化合物115:PKE(2)-L15-FGF21(化合物2)

[0823] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYL YTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO:415)

[0824] 化合物116:PKE(2)-L16-FGF21(化合物2)

[0825] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPH PIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGS SDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:416)

[0826] 化合物117:PKE(2)-L17-FGF21(化合物2)

[0827] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYL YTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRE LLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO:417)

[0828] 化合物118:PKE(2)-L18-FGF21(化合物2)

[0829] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPGGGSPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ QTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDG YNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:418)

[0830] 化合物119:PKE(2)-L19-FGF21(化合物2)

[0831] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPEEEDPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQ QTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDG YNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:419)

[0832] 化合物120:PKE(2)-L20-FGF21(化合物2)

[0833] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS

GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVR QRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEAC SFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPS YAS(SEQ ID NO:420)

[0834] 化合物121:PKE(2)-L21-FGF21(化合物2)

[0835] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPTPEPPSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEPPSPEPHPIPDSS PLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSM VEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:421)

[0836] 化合物122:PKE(2)-L22-FGF21(化合物2)

[0837] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPTPEPPSPEPPTPEPGGGGSPSPEPPTPEPPSPEPHPIPDS SPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGAL YGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLS MVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:422)

[0838] 化合物123:PKE(2)-L23-FGF21(化合物2)

[0839] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWDAPAVTVRYYRITYGREVQKYSDLGPLYIYQEFTVPGSKSTATIS GLKPGVDYTITVYAVTGSGESPASSKPISINYRTPPSPEPTPEPSPEPPTPEPSPEPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQ VRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPE ACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRS PSYAS(SEQ ID NO:423)

[0840] 化合物124:HuSA(C34A)-L201-FGF21(化合物2)

[0841] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGSHPIPDSSPLLQFG GQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFD PEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQE RSPSYAS(SEQ ID NO:424)

[0842] 化合物125:HuSA(C34A)-L202-FGF21(化合物2)

[0843] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND

EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSHPIPDSSPLL
QFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSL
HFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEP
SQERSPSYAS(SEQ ID NO:425)

[0844] 化合物126:HuSA(C34A)-L203-FGF21(化合物2)

[0845] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGETGSHPIPDSSPLL
QFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSL
HFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEP
SQERSPSYAS(SEQ ID NO:426)

[0846] 化合物127:HuSA(C34A)-L204-FGF21(化合物2)

[0847] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGGSHPIPD
SSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGA
LYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPL
SMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:427)

[0848] 化合物128:HuSA(C34A)-L205-FGF21(化合物2)

[0849] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK

KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGETGSSGEGTHPIPD
SSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGA
LYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPL
SMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:428)

[0850] 化合物129:HuSA(C34A)-L206-FGF21(化合物2)

[0851] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGGSGGGGS
HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQ
RPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVG
SSDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:429)

[0852] 化合物130:HuSA(C34A)-L207-FGF21(化合物2)

[0853] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGETGSSGEGTGSTGS
HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQ
RPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVG
SSDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:430)

[0854] 化合物131:HuSA(C34A)-L208-FGF21(化合物2)

[0855] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGGSGGGGS
GGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTS
RFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQ

PPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:431)

[0856] 化合物132:HuSA(C34A)-L209-FGF21(化合物2)

[0857] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGETGSSGEGTGSTGS
GAGESHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTS
RFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQ
PPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:432)

[0858] 化合物133:HuSA(C34A,des Leu-585)-L211-FGF21(化合物2)

[0859] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGGGGGSGGGGSGGGGSH
PIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGS
SDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:434)

[0860] 化合物134:HuSA(C34A,des Leu-585)-L207-FGF21(化合物2)

[0861] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGGETGSSGEGTGSTGSH
PIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGS
SDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:435)

[0862] 化合物135:HuSA(C34A,des Leu-585)-L211-FGF21(化合物1)

[0863] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT

LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGGGGGSGGGGSGGGGSH
PIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGIL
APQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:436)

[0864] 化合物136:HuSA(C34A,des Leu-585)-L207-FGF21(化合物1)

[0865] DAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHT
LFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIAR
RHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLS
QRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVEND
EMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAK
VFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPC
AEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIK
KQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGGETGSSGEGTGSTGSH
PIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQR
PDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGIL
APQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:437)

[0866] 化合物137:FGF21(化合物2)-L205-HuSA(C34A)-

[0867] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGIL
APQPPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYASGETGSSGEGTDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFED
HVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPR
LVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGK
ASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICE
NQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYS
VVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQV
STPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVD
ETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAE
EGKKLVAASQAALGL(SEQ ID NO:440)

[0868] 化合物138:FGF21(化合物2)-L209-HuSA(C34A)-

[0869] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGIL
APQPPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFA
QYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQ

HKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLP
KLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADD
RADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY
EYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALL
VRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNR
RPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCK
ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL(SEQ ID NO:441)

[0870] 化合物139:FGF21(化合物2)-L210-HuSA(C34A)-

[0871] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGIL
APQPPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESGTGESGEGGSDAHKSEVAHRFKDLGEEN
FKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQ
EPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQ
AADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECC
HGDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEA
KDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQL
GEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVT
KCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDD
FAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL(SEQ ID NO:442)

[0872] 化合物140:FGF21(化合物1)-L209-HuSA(C34A)-

[0873] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPP
APPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESDAHKSEVAHRFKDLGEENF
KALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQE
PERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA
ADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCH
GDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAK
DVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLG
EYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTK
CCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDF
AAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGL(SEQ ID NO:443)

[0874] 化合物141:FGF21(化合物2)-L209-HuSA(C34A)-G4Sx3-FGF21(化合物2)HPIPDSS
PLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY
GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSM
VEPSQERSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLV
NEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPE
VDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAK
QRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQDSI
SSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLL

RLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTL
VEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVP
KEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKL
VAASQAALGLGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPES
LLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARF
LPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:446)

[0875] 化合物142:FGF21(化合物1)-L209-HuSA(C34A)-G4Sx3-FGF21(化合物1)HPIPDSS
PLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY
GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPD
VGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQA
PFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDNP
NLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELR
DEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAK
YICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARRH
PDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKK
VPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSA
LEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKET
CFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVG
GAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHL
PGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:
447)

[0876] 化合物143:FGF21(化合物2)-L209-HuSA(C34A,desLeu-585)-G4Sx3-FGF21(化合
物2)

[0877] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV
KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGIL
APQPPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFA
QYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQ
HKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLP
KLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADD
RADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLY
EYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALL
VRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNR
RPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCK
ADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIRE
DGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHG
LPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:448)

[0878] 化合物144:FGF21(化合物1)-L209-HuSA(C34A,des Leu-585)-G4Sx3-FGF21(化合
物1)

[0879] HPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGV

KTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPP
APPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESDAHKSEVAHRFKDLGEENF
KALVLIAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQE
PERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQA
ADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCH
GDLLECADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAK
DVFLGMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLG
EYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTK
CCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDF
AAFVEKCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQ
TEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGY
NVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS
(SEQ ID NO:449)

[0880] 化合物145:FGF21(化合物2)-L210-HuSA(C34A)-G4Sx3-FGF21(化合物2)HPIPDSS
PLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY
GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSM
VEPSQERSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESGTGESGEGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQ
APFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNECFLQHKDDN
PNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDEL
RDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLA
KYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLGMFLYEYARR
HPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTK
KVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFS
ALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKADDKE
TCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTV
GGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQERSPSYAS(SEQ ID NO:450)

[0881] 化合物146:FGF21(化合物1)-L210-HuSA(C34A)-G4Sx3-FGF21(化合物1)HPIPDSS
PLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALY
GSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPD
VGSSDPLSMVGPSQGRSPSYASGETGSSGEGTGSTGSGAGESGTGESGEGGSDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVL
IAFAQYLQQAPFEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAKQEPERNE
CFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAPELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAA
CLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERAFKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLE
CADDRADLAKYICENQDSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFLG
MFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYETTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQ
NALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTES
LVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVE
KCCKADDKETCFAEEGKKLVAASQAALGLGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAH

LEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQ SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:451)

[0882] 化合物147:PKE(1)-L1-FGF21(化合物2)

[0883] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGA ADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGS GRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:452)

[0884] 化合物148:PKE(1)-L2-FGF21(化合物2)

[0885] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTV GGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLH LGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:453)

[0886] 化合物149:PKE(1)-L3-FGF21(化合物2)

[0887] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQEEEEDEEEEDHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIR EDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAH GLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:454)

[0888] 化合物150:PKE(1)-L4-FGF21(化合物2)

[0889] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIR EDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAH GLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:455)

[0890] 化合物151:PKE(1)-L5-FGF21(化合物2)

[0891] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQGSHHHHHHHHHGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLE IREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSE AHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:456)

[0892] 化合物152:PKE(1)-L6-FGF21(化合物2)

[0893] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEA HLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY QSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO: 457)

[0894] 化合物153:PKE(1)-L7-FGF21(化合物2)

[0895] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQGGGGGSGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEA HLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY QSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:

458)

[0896] 化合物154:PKE(1)-L8-FGF21(化合物2)

[0897] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVDYTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQGSGSGSGSGSGSGSGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:459)

[0898] 化合物155:PKE(1)-L9-FGF21(化合物2)

[0899] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVDYTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSTPPTPSPSTPPTPSPSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:460)

[0900] 化合物156:PKE(1)-L10-FGF21(化合物2)

[0901] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVDYTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQRGGEEKKKEKEKEEQEERETKTPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:461)

[0902] 化合物157:PKE(1)-L11-FGF21(化合物2)

[0903] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVDYTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:462)

[0904] 化合物158:PKE(1)-L12-FGF21(化合物2)

[0905] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVDYTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:463)

[0906] 化合物159:PKE(1)-L13-FGF21(化合物2)

[0907] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVDYTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSTPPTPSPSTPPTPSPSPSTPPTPSPSTPPTPSPSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:464)

[0908] 化合物160:PKE(1)-L14-FGF21(化合物2)

[0909] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD

YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTV
GGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLH
LGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:465)

[0910] 化合物161:PKE(1)-L15-FGF21(化合物2)

[0911] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD
YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDA
QQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLED
GYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID
NO:466)

[0912] 化合物162:PKE(1)-L16-FGF21(化合物2)

[0913] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD
YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPHPIPDS
SPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGAL
YGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLS
MVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:467)

[0914] 化合物163:PKE(1)-L17-FGF21(化合物2)

[0915] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD
YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDA
QQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLED
GYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID
NO:468)

[0916] 化合物164:PKE(1)-L18-FGF21(化合物2)

[0917] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD
YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPGGGSPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAH
LEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQ
SEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:
469)

[0918] 化合物165:PKE(1)-L19-FGF21(化合物2)

[0919] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD
YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPEEEDPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAH
LEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQ
SEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:
470)

[0920] 化合物166:PKE(1)-L20-FGF21(化合物2)

[0921] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD
YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLY
TDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFREL
LLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS
(SEQ ID NO:471)

[0922] 化合物167:PKE(1)-L21-FGF21(化合物2)

[0923] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPTPEPPSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEPPSPEPHPIPDSSPLLQF GGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHF DPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQ GRSPSYAS(SEQ ID NO:472)

[0924] 化合物168:PKE(1)-L22-FGF21(化合物2)

[0925] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPTPEPPSPEPPTPEPGGGGSPSPEPPTPEPPSPEPHPIPDSSPLLQ FGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLH FDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPS QGRSPSYAS(SEQID NO:473)

[0926] 化合物169:PKE(1)-L23-FGF21(化合物2)

[0927] GVSDVPRDLEVVAATPTSLLISWHSYYEQNSYYRITYGETGGNSPVQEFTVPYSQTTATISGLKPGVD YTITVYAVYGSKYYYPISINYRTEIEKPSQPSPEPTPEPSPEPPTPEPSPEPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRY LYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFR ELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS (SEQ ID NO:474)

[0928] 化合物170[Fc(hIgG1a_191)-L7-FGF21(化合物2)]

[0929] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGGGGSGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPL PGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:475)

[0930] 化合物171[Fc(hIgG1a_191)-L250-FGF21(化合物2)]

[0931] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGGGSGGGSGGGGSGGGSGGGGSGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTV GGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLH LGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:476)

[0932] 化合物172[Fc(hIgG1a_191)-L12-FGF21(化合物2)]

[0933] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDG TVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLP LHLGSGRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:477)

[0934] 化合物173[Fc(hIgG1a_191)-L251-FGF21(化合物2)]

[0935] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKPSPEPPTPEPPSPEPHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPL PGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:478)

[0936] 化合物174[Fc(hIgG1a_191)-L5-FGF21(化合物2)]

[0937] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGSHHHHHHHHGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKA LKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGL PPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:479)

[0938] 化合物175[Fc(hIgG1a_191)-L252-FGF21(化合物2)]

[0939] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKELQLEESAAEAQEGELEHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESL LQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFL PLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:480)

[0940] 化合物176[Fc(hIgG1a_190)-L253-FGF21(化合物2)]

[0941] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGSSGGGGSGGGSGGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLL QLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLP LPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:481)

[0942] 化合物177[Fc(hIgG1a_191)-L6-FGF21(化合物2)]

[0943] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSPGKGGGGSGGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPL PGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:482)

[0944] 化合物178[Fc(hIgG1a_189)-L6-FGF21(化合物2)]

[0945] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS

LSLSPGGGGSGGGGSGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKA
LKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPLPGL
PPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:483)

[0946] 化合物179[Fc(hIgG1a_191)-L7-FGF21-1aa(C末端氨基酸被删除的化合物2)]

[0947] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGKGGGGGSGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ
LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPL
PGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYA(SEQ ID NO:484)

[0948] 化合物180[Fc(hIgG1a_191)-L7-FGF21-3aa(3个C末端氨基酸被删除的化合物2)]

[0949] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGKGGGGGSGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ
LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPL
PGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPS(SEQ ID NO:485)

[0950] 化合物181[Fc(hIgG1f_1.1_186)-L7-FGF21(化合物2)]

[0951] EPKSSDKTHTCPPCPAPEAEGAPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVE
VHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMT
KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNH
YTQKSLSLSPGKGGGGGSGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSP
ESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPA
RFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:486)

[0952] 化合物182[Fc(hIgG1a_191b)-L7-FGF21(化合物2)]

[0953] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAK
TKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKNQVS
LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS
LSLSPGKGGGGGSGGGSGGGGSHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQ
LKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVYQSEAHGLPLHLGSGRGPARFLPL
PGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVEPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:487)

[0954] 实施例5

[0955] FGF-21缺失分子的体外效力

[0956] 在本实施例中,在基于细胞的体外受体活化测定中测试了数种修饰的FGF-21多肽的效力并与聚乙二醇化的化合物1的效力相比。据显示,数种修饰的FGF-21多肽(包括聚乙二醇化的化合物2)具有与聚乙二醇化的化合物1相当的效力。

[0957] 方法

[0958] 产生了稳定表达人β-klotho的克隆人胚肾(HEK)293细胞系以在初级体外测定中表征FGF21变体。通过遵循制造商关于Lipofectamine 2000(Invitrogen)转染试剂的方案

并使用编码具有C末端FLAG标签(N-DYKDDDDK-C,以一字母氨基酸代码)的人β-klotho线性化质粒(其处于在巨细胞病毒启动子控制下)转染HEK-293细胞。在选择培养基[于具有4.5g/l的含L-谷氨酰胺的D-葡萄糖、Hepes(Invitrogen)和10％胎牛血清(FBS)的Dulbecco's修饰的Eagle's培养基(DMEM)中的600μg/mL遗传霉素(Invitrogen)]中生长14天后分离阳性克隆。

[0959] 初级测定测量了稳定表达人β-klotho的克隆HEK-293细胞系中胞外信号调节的激酶1/2(pERK1/2)的FGF21变体依赖性磷酸化。为进行测定,将细胞于200μL选择培养基中以每孔40,000个细胞接种于96孔组织培养平板(Falcon)中并维持于37℃潮湿的5％CO_2氛围中。48小时后,用无血清培养基(具有4.5g/l D-葡萄糖及0.1％无脂肪酸牛血清白蛋白的DMEM)替换全选择培养基,并将细胞维持在37℃潮湿的5％CO_2氛围中6小时。用无血清培养基连续稀释待测试的化合物。测定通过用稀释的化合物替换细胞上的无血清培养基开始,允许温育在室温进行7分钟,并通过去除化合物和将100μL裂解缓冲液(Perkin Elmer AlphaScreen试剂盒)添加至各孔中以终止反应。在~80rpm于室温振荡平板约10分钟并于-80℃冷冻储存。根据制造商关于Surefire AlphaScreen pERK1/2试剂盒和AlphaScreen IgG检测试剂盒,蛋白A(Perkin Elmer)的方案,使用384孔白色Proxiplates(Perkin Elmer)分析来自各孔的复苏的细胞裂解液的等分试样(4μl)的pERK1/2。在室温于黑暗中温育平板两小时,然后在Envision 2103Multiplate读取器(Perkin Elmer)上使用AlphaScreen方案读取。使用GraphPad Prism 5软件通过非线性回归将数据拟合为4参数对数(激动剂)对响应的方程。

[0960] 结果

[0961] 通过测量人胚肾(HEK)293细胞系中胞外信号调节的激酶(ERK)1/2的FGF21-依赖性磷酸化来确定体外效力,其中已稳定引入人β-Klotho以与内源性表达的FGFR剪接变体充当共同受体。通过确定各测试化合物的平均EC_{50}或pEC_{50}(以摩尔/公升表示的EC_{50}浓度的以10为底的负对数)值评估效力。聚乙二醇化的化合物1和聚乙二醇化的化合物2的例示性剂量-响应曲线示于图2中。其他测试化合物的结果示于表4和5中。

[0962] 表4.pERK测定中修饰的FGF-21的体外活性的EC50值

[0963]

化合物名称	pERK EC50(nM)n＝3
聚乙二醇化的化合物1	6.7
化合物2	4.6
化合物3	28
化合物5	69.2
化合物6	39.1
化合物7	28.4
化合物10	21.9
化合物11	28.2
化合物12	31.9
化合物19	5.1
化合物20	3.9
化合物22	4.1

化合物23	30

[0964] 表5.pERK测定中修饰的FGF-21的体外活性的EC50值

[0965]

化合物名称	EC50(nM)
聚乙二醇化的化合物1	14
聚乙二醇化的化合物2	28
聚乙二醇化的化合物5	24
聚乙二醇化的化合物6	20
聚乙二醇化的化合物10	28
聚乙二醇化的化合物11	30
聚乙二醇化的化合物12	39
聚乙二醇化的化合物19	30
聚乙二醇化的化合物20	42
聚乙二醇化的化合物21	30
聚乙二醇化的化合物22	36
化合物32(非聚乙二醇化对照)	8

[0966] 实施例6

[0967] 修饰的FGF-21多肽的热稳定性测试

[0968] 在本实施例中,使用热扫描荧光(TSF)和差示扫描量热法(DSC)测量修饰的FGF-21多肽的热稳定性。文献中认定热稳定性对于确定形成聚集体倾向具有预测价值(参见例如Webster,“Predicting Long-Term Storage Stability of Therapeutic Proteins”,Pharmaceutical Technology,第37卷,第11期,第42-48页,2013年11月2日)。

[0969] 方法

[0970] 在MicroCal(Malvern Instruments)自动VP-DSC中通过差示扫描量热法测量热变性中点。对于DSC分析,以每小时90℃的扫描速率以约2mg/mL用250mM蔗糖、20mm组氨酸pH 7.0配制蛋白样品。用相同的无蛋白缓冲液填充参考细胞(cell)。从热分析图迹线(箭头)中所见的最大峰确定在溶液条件和所应用的扫描速率下折叠与热解折叠的蛋白结构域之间的相变的转变中点(Tm)。

[0971] 对于热扫描荧光(TSF),将蛋白在目的缓冲液中稀释至0.2mg/mL并添加少量荧光团苯氨基萘磺酸(ANS)。将样品置于96孔PCR薄壁平板中并在外来荧光团的存在下使蛋白样品的温度增加,同时在Bio-Rad CT1000-RT PCR仪上监测样品的荧光。在蛋白与热变性蛋白的新暴露的疏水性核心相互作用时,通过监测探针的荧光信号增加来确定蛋白的蛋白热解折叠的中点。在测验的缓冲液及扫描速率条件下解折叠中点(Tm)的温度定义为荧光信号升高曲线的温度拐点(inflection point)。

[0972] 结果

[0973] 代表性的DSC扫描结果示于图3中。观察到聚乙二醇化的化合物2的转变中点(“Tm”)温度比聚乙二醇化的化合物1高约8℃。热可逆性>95%(数据未显示)。

[0974] 图4显示了TSF的代表性结果。化合物10表现出相对于化合物1(具有野生型FGF-21序列,但其包括N末端甲硫氨酸以在大肠杆菌中表达)Tm增加约8℃。其他化合物的结果示于下表6中。

[0975] 总之,这些结果说明可合理预期例示性化合物会降低形成聚集体的倾向,例如化合物2、10和16。预期降低的形成聚集体的倾向会赋予更长的储存期限和/或配制为较大浓度的能力。

[0976] 表6.通过热扫描荧光确定修饰的FGF-21多肽相比于化合物1的热稳定性结果。对于一些化合物观察到了多至约7-8℃的热稳定性增加。

[0977]

化合物	Tm (摄氏度)	与化合物 1 的差异
化合物 1	46.63	0
化合物 2	53.2	6.57
化合物 3	46.92	0.29
化合物 5	47.46	0.83

[0978]

化合物 6	43.2	-3.43
化合物 7	42.78	-3.85
化合物 10	54.5	7.87
化合物 11	43.9	-2.73
化合物 12	45.4	-1.23
化合物 14	42.97	-3.66
化合物 16	50.8	4.17
化合物 18	47.96	1.33

[0979] 实施例7

[0980] 脱酰胺化和聚集体形成

[0981] 本实施例描述了对修饰的FGF-21多肽的脱酰胺化和聚集体形成的评估。

[0982] 方法

[0983] 热应力测试:

[0984] 在测试缓冲液(250mM蔗糖,20mM组氨酸,pH 6.5和pH 7或20mM TRIS pH 7.5)中以7.5mg蛋白/mL的浓度制备目的蛋白样品。通过分析型大小排阻色谱(aSEC)和时间=0时的成像毛细管等电聚焦(icIEF)的电荷变体分析来测验样品。然后通过将样品置于25℃培养箱中1周然后在40℃5周来测试样品的应力。取出等分试样并通过icIEF和aSEC在各个时间点进行检查,在接下来的4至5周取出并进一步通过aSEC和icIEF进行检查以监测稳定性。

[0985] aSEC

[0986] 使用Agilent 1100HPLC系统(Agilent Technologies,Santa Clara,CA USA)在Zenix-C 300SEC柱(Sepax Technologies,Newark,DE USA)上用300×4.6mm的尺寸进行大小排阻色谱(aSEC)。所用的流动相是200mM磷酸钾和150mM氯化钠,其调节至pH 6.9,流动速率为0.35mL/min。对于各分析注射约20μg样品。在UV 280nm处监测分离。在与各物质对应的保留时间处通过曲线下面积的积分来进行单体对HMW物种的定量。

[0987] icIEF

[0988] 通过成像毛细管等电点聚焦(icIEF)进行的电荷变体分析(脱酰胺化会增加蛋白的净负电荷和酸性变体的形成)检测脱酰胺化,其在iCE280仪器(ProteinSimple,Santa

Clara,CA USA)上使用经碳氟化合物涂布的毛细管(100μm×50mm)进行。使用含有0.35％甲基纤维素、4％pH 3-10Pharmalytes、4M尿素和2％pI标志物的溶液将样品稀释至0.3mg/mL。阳极电解液和阴极电解液分别为0.08M磷酸和0.1M氢氧化钠。通过应用1.5kV 2min然后3.0kV 11min来达到聚焦。由对应的曲线下面积的积分,相对于亲本物质,来定量(-)电荷的修饰的物种。

[0989] 结果

[0990] 聚乙二醇化的化合物2的生物物理学特性表现出相对于聚乙二醇化的化合物1的优越性。在2-8℃经5周均未观察到降解,伴随着在40℃在加速条件下观察到相对于聚乙二醇化的化合物1的低速降解(图5)。八周加速研究指示,在测试配制物(组氨酸/蔗糖pH 7.0)中聚乙二醇化的化合物2优于聚乙二醇化的化合物1。在这些赋形剂条件下,脱酰胺化消除且聚乙二醇化的化合物2降低了形成可溶性高分子量(HMW)聚集体的倾向。这些结果提示,相对于聚乙二醇化的化合物1,聚乙二醇化的化合物2具有降低的聚集倾向,具有可供配制选择的较宽pH范围。

[0991] 还分析了HMW聚集体形成。在给定浓度处HMW聚集体形成较少表示溶解度较大,由此使得能够配制为较高浓度。图6说明了数种修饰的FGF-21多肽和化合物1的HMW聚集体形成。对于大多数测试化合物,相对于聚乙二醇化的化合物1的聚集体形成降低(例如聚乙二醇化的化合物2和聚乙二醇化的化合物10)。对于少数化合物,HMW聚集体形成类似于或高于聚乙二醇化的化合物1。

[0992] 还分析了脱酰胺化。图7说明数种修饰的FGF-21多肽和聚乙二醇化的化合物1所检测的脱酰胺化水平(由随时间的酸性变体的形成指示)。对于所有显示的修饰的FGF-21多肽,检测到的脱酰胺化水平是相对于聚乙二醇化的化合物1降低的。

[0993] 实施例8

[0994] 修饰的FGF-21多肽的溶解度评估

[0995] 本实施例描述了修饰的FGF-21多肽的相对溶解度的测量。结果显示化合物能够配制成相对高的浓度,其允许更便利地施用有效剂量。

[0996] 方法

[0997] 相对溶解度评估通过序贯活塞流浓缩循环,然后是大小排阻色谱分析来进行。将于PBS pH 7.2中以类似但不相同的起始浓度配制的样品吸入至3kDa分子量截留离心浓缩器中并在4℃以4,750RPM旋转10分钟、15分钟和30分钟的循环。在旋转循环之间,自浓缩装置移出等分试样并进行分析型大小排阻色谱分析(aSEC)(在用PBS pH 7.2缓冲液平衡的GE Healthcare Superdex S-7510/300GL柱上)以确定溶液中HMW及单体物种的浓度。

[0998] 用NanoDrop分光光度计通过280nm处的吸光度来确定总浓度。相对于SEC色谱图迹线中的单体峰,通过高分子量峰的曲线下面积计算来确定高分子量百分比。绘制所得数据点以将观察测试条件下从最难溶构建体至最可溶的排列顺序可视化,由数据点产生的斜率越低,测试条件下的蛋白变体越稳定。

[0999] 结果

[1000] 修饰的FGF-21多肽的相对溶解度通过测量高分子量(HMW)聚集体的形成作为蛋白浓度的函数来确定。在给定浓度下较低的HMW聚集体形成指示较大的溶解度,由此使得能够配制至较高浓度。

[1001] 测试化合物的活塞流溶解度曲线的斜率示于下表7中(较低值表示较少聚集体形成且因此能够配制为较高浓度)。对于其中数种化合物(例如化合物2和化合物10)观察到相对低的聚集体形成水平,指示较低的聚集体形成和较大的溶解度(图8和表7)。观察到化合物1的活塞流溶解度斜率最高。

[1002] 表7.修饰的FGF-21多肽的活塞流溶解度结果

[1003]

化合物	活塞流溶解度斜率
化合物1	1.863
化合物2	0.3171
化合物3	1.2219
化合物5	0.8548
化合物6	1.1353
化合物7	1.4318
化合物10	0.3647
化合物11	1.1156
化合物12	1.0317
化合物19	0.9743
化合物20	1.1545
化合物22	0.1997
化合物23	0.771

[1004] 实施例9

[1005] FGF-21缺失分子的免疫原性测试

[1006] 进行T细胞活化响应研究,并指示大多数化合物中所用的蛋白序列与聚乙二醇化的化合物1中所用的蛋白序列表现出等同响应。

[1007] 方法

[1008] 通过CD4+T细胞增殖测定评估免疫原性。使用Ficoll梯度自不同组的人血液供体分离外周血单核细胞(PBMC)。对供体进行HLA分型以确保覆盖人群体中存在的II类MHC等位基因的变化。在标记之后,具有羧基荧光素琥珀酰亚胺酯(CFSE)的PBMC以每孔200,000个细胞在测试化合物存在下于标准细胞培养基中平板接种于96孔格式中7天。通过用抗CD4抗体标记和流式细胞术分析CD4+T细胞的增殖。抗原性蛋白的百分比计算为相对于介质对照表现出显著CD4+T细胞增殖响应的供体的百分比。

[1009] 结果

[1010] 在利用人T细胞增殖测定的体外免疫原性风险评估中,与40个供体中的15个显示出来自化合物1(具有野生型FGF-21序列,但其包括N末端甲硫氨酸以在大肠杆菌中表达)阳性信号相比,在暴露于化合物2经7天之后,40个供体中的13个(32.5%)显示出CD4+增殖响应(图9)。尽管此基于细胞的实验不能替代实际世界的人免疫响应观察结果,但此分析指示与野生型FGF21相比,化合物2的人免疫原性风险没有增加。

[1011] 在相对于化合物1的CD4+增殖测定中测试了进一步修饰的FGF-21多肽(图9)。免疫原性一般与对照FGF21序列(化合物1)观察到的免疫原性类似,但其中例外为化合物10,其表现出相对较更高的免疫响应,指示若向人患者施用,则该化合物可能具有不合意的免疫

原性。

[1012] 实施例10

[1013] C末端完整(活性)的修饰的FGF-21多肽的体内稳定性

[1014] 本研究评估了体内C末端完整(即活性)的修饰的FGF-21多肽的水平。与聚乙二醇化的化合物1相比,聚乙二醇化的化合物2表现出大大增加的C末端完整的活性多肽的比例,包括更长的体内活性的持续时间。

[1015] 方法

[1016] 在食蟹猴中在分别皮下(SC)给药0.25mg/Kg和0.225mg/kg之后评估聚乙二醇化的化合物2和聚乙二醇化的化合物1的药代动力学。在药物施用之后0、0.25、0.5、1、3、7、24、48、72、96、120、144、168小时收集血液样品(0.2mL)并储存于-80℃直至进行生物分析。

[1017] 总计和C末端完整的聚乙二醇化的化合物1及聚乙二醇化的化合物2的PK参数通过血清或血浆浓度相对于时间数据的非分区分析(non-compartmental analysis)获得(Phoenix™ WinNonlin®,6.3,Pharsight Corporation,St.Louis,MO)。使用线性和对数梯形求和的组合计算时间零点至无穷大[AUC(tot)]的曲线下面积。可以定量浓度使用3个时间点的最小值估计AUC和半衰期(t 1/2)。

[1018] 使用未验证的基于中型探索(MSD)的电化学发光免疫吸附剂分析(ECLIA)测量了单次剂量PK研究中总聚乙二醇化的化合物1的浓度。使用PEG特异性单克隆抗体(mAb)捕获聚乙二醇化的化合物1,随后使用兔抗FGF21多克隆抗体(pAb)检测总聚乙二醇化的化合物1。

[1019] 还在雄性Ob/Ob小鼠中评估了聚乙二醇化的化合物2和聚乙二醇化的化合物1的皮下(SC)药代动力学(PK)。向小鼠(n=3/时间点/途径)以单次皮下0.1mg/kg注射施用聚乙二醇化的化合物2。施用0.05mg/kg呈单次皮下剂量形式的聚乙二醇化的化合物1。在药物施用后的各个时间点收集血液样品并基本上如对于食蟹猴所述进行处理。

[1020] 经由电化学发光读出,以相对光度单位(RLU)表示,其与通过捕获和检测试剂结合的总聚乙二醇化的化合物1的量成比例。标准曲线在0.2与154ng/mL之间。使用4参数对数(logistic)拟合回归模型用1/Y的权重因子定量测试样品。使用相同的测定来测量ZDF大鼠和食蟹猴血清中C末端完整的聚乙二醇化的化合物1的浓度,只是使用特异性针对聚乙二醇化的化合物1的C末端的兔抗FGF21pAb进行检测。标准曲线在0.2与154ng/mL之间。使用4参数对数拟合回归模型用1/Y的加权因子定量测试样品。

[1021] 结果

[1022] 聚乙二醇化的化合物1经历体内蛋白水解,以使得随时间大多数化合物变为截短的非活化形式。在ob/ob小鼠(图10)和食蟹猴(图11)中直接比较聚乙二醇化的化合物1和2的体内蛋白水解稳定性。这些结果显示了与聚乙二醇化的化合物1相比,含有缺失的修饰的FGF-21化合物(聚乙二醇化的化合物2)的活性C末端完整形式的AUC增加7至8倍,指示聚乙二醇化的化合物2的体内蛋白水解稳定性增加。

[1023] 实施例11

[1024] 修饰的FGF-21多肽的药代动力学研究

[1025] 本实施例显示了在在小鼠、大鼠及食蟹猴中使用修饰的FGF-21多肽进行的药代动力学研究的结果(参见下表8)。

[1026] 简言之,在小鼠、大鼠和猴中聚乙二醇化的化合物2的清除率低(范围:0.94-2.6mL/h/kg)。约0.04-0.05L/kg的分布体积(Vss)接近血浆体积且指示血管外间隙中的最少分布。在小鼠(40%)和猴(58%)中的皮下(SC)生物利用度是可接受的,而在大鼠(16%)中其相对低。此低皮下生物利用度可为特异性针对大鼠的,因为已观察到其他聚乙二醇化分子具有类似现象(在大鼠中具有低SC生物利用度,在小鼠、猴和人中具有良好生物利用度)。更重要的是,这些物种(包括大鼠)中聚乙二醇化的化合物2的SC生物利用度比聚乙二醇化的化合物1高2-3.4倍。

[1027] 在向小鼠、大鼠及猴皮下施用聚乙二醇化的化合物2之后,相对于聚乙二醇化的化合物1,完整蛋白的剂量校正的暴露(AUC)一致(7-8倍)增加。在所有三种物种中,相对于聚乙二醇化的化合物1,在皮下施用之后完整聚乙二醇化的化合物2的暴露增加可归因于较低的全身清除率(2-5倍)以及皮下生物利用度改进(2-3.4倍)。

[1028] 由蛋白水解片段和完整聚乙二醇化的化合物2的混合物构成的总聚乙二醇化的化合物2也以这些药代动力学研究测量。在小鼠和大鼠中,在静脉内施用之后完整的聚乙二醇化的化合物2相对于总聚乙二醇化的化合物2的AUC比率接近1,从而指示系统性蛋白水解最少。然而,在这些物种中,在皮下施用之后该比率为0.6-0.86,指示了在SC部位的一些蛋白水解。在猴中注意到了类似趋势,其中与静脉内施用相比,在SC施用之后完整聚乙二醇化的化合物2相对于总聚乙二醇化的化合物2的AUC比率有少量降低(在SC给药之后为0.7对比在IV给药之后为0.8)。

[1029] 总体而言,聚乙二醇化的化合物2表现出有利的体外及体内药代动力学特性,包括增加的生物利用度、降低的清除率及增加的AUC(血浆浓度-时间曲线下面积)。

[1030] 表8.小鼠、大鼠和猴中完整的修饰的FGF-21蛋白的IV和SC药代动力学

[1031]

物种	*小鼠*		*大鼠*		*猴*	
	聚乙二醇化的化合物1	聚乙二醇化的化合物2	聚乙二醇化的化合物1	聚乙二醇化的化合物2	聚乙二醇化的化合物1	聚乙二醇化的化合物2

[1032]

CL (mL/h/kg)	6.1	2.5	6.2 ± 0.7	2.6 ± 0.4	4.4 ± 1	0.94 ± 0.05
Vss (L/kg)	0.043	0.044	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.005	0.04 ± 0.003
半衰期 (h)	47	26	35 ± 1	24 ± 3.9	13 ± 2	57 ± 4.2
MRT (h)	7.1	20	8.4 ± 0.3	20 ± 1.3	16 ± 2.5	47 ± 1.5
SC BA (%)	15	40	4.8	16.3	30	58
*SC AUC (μg/mL*h)*	1.2	8.1	0.39 ± 0.07	3.1 ± 0.2	20 ± 2.2	154 ± 63

[1033] 缩写:CL:血浆的表观总身体药物清除率;Vss:稳定状态下的表观分布体积;MRT:平均保留时间;SC BA:皮下生物利用度;SC AUC:皮下血浆浓度-时间曲线下面积。

[1034] 实施例12

[1035] 糖尿病小鼠模型中修饰的FGF-21多肽的体内重复给药研究

[1036] 在21天重复给药研究中直接(head-to-head)评估聚乙二醇化的化合物2和聚乙二醇化的化合物1。结果指示尽管两种化合物对于改善代谢症状都有效,但较长的活性聚乙二

醇化的化合物2的体内半衰期会产生更大的治疗作用,在比较每周给药的影响时尤其如此。

[1037] 方法

[1038] 在本研究开始时雄性ob/ob小鼠(Jackson Laboratories,Bar Harbor,ME)为8周龄。基于体重和葡萄糖水平将小鼠随机分入处理组。所有组通过皮下(s.c.)施用1ml/kg给药溶液处理。处理组如下:1)介质(250mM蔗糖/20mM Tris,pH 8.3),每周两次(BIW),2)聚乙二醇化的化合物1,0.15mg/kg BIW,3)聚乙二醇化的化合物2,0.15mg/kg BIW,4)聚乙二醇化的化合物1,0.3mg/kg,每周一次(QW),或5)聚乙二醇化的化合物2,0.3mg/kg QW。每周仅施用一次化合物的小鼠在BIW组施用其每周第二次化合物注射剂之日时施用介质。确定饲喂状态下整个21天给药期中的体重、血浆葡萄糖、甘油三酯(Olympus临床化学分析仪,AU680)和胰岛素(ELISA,Mercodia Inc.)。在研究开始和终止时也用Olympus分析仪确定全血中的糖化血红蛋白(HbA1c)。

[1039] 结果

[1040] 皮下施用0.15mg/kg的剂量每周两次(BIW)和0.3mg/kg QW施用聚乙二醇化的化合物1与聚乙二醇化的化合物2。第21天在最低处测量的血浆浓度显示总(完整和蛋白水解的)FGF21的暴露对于两种变体相似,但在QW或BIW施用之后,活性C末端完整聚乙二醇化的化合物2的暴露分别比聚乙二醇化的化合物1高12至25倍(表9)。

[1041] 表9:在ob/ob小鼠中在重复给药21天之后最低处的C末端完整的聚乙二醇化的化合物1和聚乙二醇化的化合物2的暴露(平均值±s.e.m.)

[1042]

参数	聚乙二醇化的化合物2 BIW (0.15 mg/kg)	聚乙二醇化的化合物1 BIW (0.15 mg/kg)	聚乙二醇化的化合物2 QW (0.3 mg/kg)	聚乙二醇化的化合物1 QW (0.3 mg/kg)
最低处的浓度(ng/mL)	175±43	7±0.7	38±3	3±0.1
预测的Cmax(ng/mL)*	1064	313	2149	633
预测的AUC(μg/mL*h)*	107	18	107	18

[1043] *基于ob/ob小鼠中的单剂量药代动力学数据预测

[1044] 从将葡萄糖无酶催化添加至此蛋白内的特异性氨基酸中体内产生糖化血红蛋白(HbA1c),且测量的HbA1c百分比与循环红细胞的寿命上并入的平均血糖对应。大于6.5%的HbA1c值是糖尿病的诊断准则。图12中显示出重复给药研究的第21天的介质校正的HbA1c变化。BIW施用0.15mg/kg的任一FGF21多肽在施用21天之后将HbA1c校正至小于5%的值。然而,与以QW施用0.3mg/kg介质相比,仅聚乙二醇化的化合物2在统计上显著降低ΔHbA1c,这与对于活性C末端完整蛋白的功能性暴露显著增加是一致的。这些结果表面维持目标最低浓度($C_{最低处}$)对于功效可为足够的(表9)。

[1045] 与降低的HbA1c结果一致,在整个研究中血浆葡萄糖水平也显著降低(第2至21天,相对于介质的所有组$p<0.01$,第14天的QW剂量除外,其聚乙二醇化的化合物2达到统计学显著性($p<0.05$)且聚乙二醇化的化合物1不显著)(图16)。总体而言,在研究过程中通过所有处理的葡萄糖AUC变化(相对于介质的百分比差异)显著降低($p<0.001$相对于介质)(图17)。

[1046] 另外,在第2和4天对于BIW组(p<0.01)和在第2、4和10和17天对于QW组(p<0.01),以及在第2和17天对于聚乙二醇化的化合物1QW组(p<0.05),相对于介质,在聚乙二醇化的化合物2组中血浆甘油三酯水平显著降低(图18)。

[1047] 在ob/ob小鼠中,在整个21天研究过程中,相对于介质或聚乙二醇化的化合物1,聚乙二醇化的化合物2显著降低体重增加百分比(图13和图14)。当在最低处测量体重时,在第7、14和21天QW施用0.3mg/kg聚乙二醇化的化合物2表现出降低的功效,再次说明维持目标最低浓度($C_{最低处}$)对于功效可为足够的。

[1048] 在ob/ob小鼠中,在整个21天重复给药研究中,BIW施用0.15mg/kg聚乙二醇化的化合物2统计学显著地降低血浆胰岛素水平(图15);在第10天之后BIW聚乙二醇化的化合物1未能显著降低血浆胰岛素。QW施用0.3mg/kg聚乙二醇化的化合物2产生表观“锯-齿形”曲线,其中当在化合物最低处测量胰岛素时在第14和21天趋势为超出介质组中的值。此图指示在长期给药下聚乙二醇化的化合物2可保持胰脏中的胰岛素含量。

[1049] 这些结果显示,0.15mg/kg BIW组中维持聚乙二醇化的化合物2为175ng/ml的最低浓度(表9)导致血糖和体重变化的测量中的显著改进。

[1050] 相对于聚乙二醇化的化合物1,ob/ob小鼠模型中对于活性C末端完整的聚乙二醇化的化合物2的暴露增加使得QW施用的对基于剂量和延长的作用持续时间的体内效力增强,从而导致HbA1c、重量增加和血浆胰岛素的优良的降低。

[1051] 实施例13

[1052] 脂肪肝至非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的进展最终可产生肝纤维化。本实施例描述了FGF-21多肽的使用,在纤维化模型中包含经修饰以含有在位置108处用谷氨酰胺取代对-乙酰基-L-苯丙氨酸并连接至30kDa聚(乙二醇)的人FGF-21多肽,(聚乙二醇化的化合物1或“PEG-化合物1”,SEQ ID NO:201)。具体而言,在NASH的Stelic Institute的2命中模型中测试了PEG-化合物1,其中C57BL6小鼠在出生之后不久用链脲霉素处理以诱导糖尿病,然后在4周龄时饲以高脂肪膳食。在可再现时程中这些小鼠患上脂肪肝(5周)、NASH(7周)、肝纤维化(9周)和终末期肝细胞癌(16周)。当从5至9周龄(预防性模型)或7至9周龄(治疗性模型)对小鼠进行处理时,PEG-化合物1预防或有效逆转Stelic模型中的NASH发展。在此研究中在9周时间点处,PEG-化合物1还降低肝纤维化。

[1053] PEG-化合物1的序列如下:

[1054] MHPIPDSSPLLQFGGQVRQRYLYTDDAQQTEAHLEIREDGTVGGAADQSPESLLQLKALKPGVIQILGVKTSRFLCQRPDGALYGSLHFDPEACSFRELLLEDGYNVY(pAF)SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEPPGILAPQPPDVGSSDPLSMVGPSQGRSPSYAS(SEQ ID NO:201),其中pAF连接至30kDa PEG。

[1055] 材料和方法

[1056] C57BL/6小鼠(怀孕15天的雌性)获取自Charles River Laboratories Japan, Inc.(Kanagawa,Japan)。豢养用于研究的所有动物并根据关于动物使用的日本药理学会指南(Japanese Pharmacological Society Guidelines)看护。

[1057] 将动物维持于SPF设备中处于受控的温度(23±2℃)、湿度(45±10%)、照明(12小时人工光和暗循环;8:00至20:00有光照)及空气交换的条件下。实验房间维持高压(20±4Pa)以预防设备污染。将动物豢养于聚碳酸酯笼KN-600(Natsume Seisakusho,Japan)中,

每笼最多4只小鼠。使用灭菌的PULMASμ(Material Research Center,Japan)铺垫且每周替换一次。

[1058] 提供任意可取的灭菌的固体高脂肪膳食(HFD),置于笼顶的金属盖中。从装备有橡胶塞何吸管的水瓶任意提供纯水。水瓶一周替换一次,清洁并在高压釜中灭菌且重复使用。

[1059] 在40只雄性小鼠中通过在出生之后单次皮下注射200μg链脲霉素(STZ,Sigma-Aldrich Co.LLC.,USA)溶液2天和在4周龄之后饲喂高脂肪膳食(HFD,57kcal%脂肪,目录号:HFD32,CLEA Japan,Inc.,Japan)诱导NASH(“STAM小鼠”)。在治疗时段期间每周每日测量食品消耗。

[1060] 通过皮下途径以1mL/kg的体积施用PEG-化合物1和介质(20mM Tris/250mM蔗糖,pH 8.3)。每周两次施用剂量为1和3mg/kg的PEG-化合物1。

[1061] 使用LIFE CHECK(EIDIA Co.Ltd.,Japan)在全血中测量非空腹血糖。对于血浆生物化学分析,将血液收集于具有抗凝血剂的聚丙烯管(Novo-Heparin,Mochida Pharmaceutical Co.Ltd.,Japan)中并在4℃以1,000xg离心15分钟。收集上清液并储存于-80℃直至使用。通过FUJI DRI-CHEM 7000(Fujifilm Corporation,Japan)测量血浆丙氨酸转胺酶(ALT)、甘油三酯及总胆固醇水平。

[1062] 通过Folch’s法获得肝脏总脂质提取物(Folch J.等,J.Biol.Chem.1957;226:497)。使肝脏样品在氯仿-甲醇(2:1,v/v)中均质化并在室温温育过夜。在用氯仿-甲醇-水(8:4:3,v/v/v)洗涤之后,使提取物蒸发至干燥并溶解于异丙醇中。分别通过甘油三酯E-测试和胆固醇E-测试测量肝脏甘油三酯和胆固醇水平(Wako Pure Chemical Industries,Ltd.,Japan)。

[1063] 对于苏木素及伊红(HE)染色,从用Bouin’s溶液预固定的肝脏组织石蜡块切片并用Lillie-Mayer’s苏木素(Muto Pure Chemicals Co.,Ltd.,Japan)和伊红(Wako Pure Chemical Industries)染色。根据Kleiner的标准计算非酒精性脂肪肝病(NAFLD)活性评分(NAS)(Kleiner DE.等,Hepatology,2005;41:1313)。为观察大泡和小泡脂肪,从用10%中性缓冲福尔马林预固定、包埋于Tissue-Tek O.C.T.化合物(Sakura Finetek Japan Co.Ltd.,Japan)中的冷冻肝脏组织进行冷冻切片并用油红O(Sigma-Aldrich)染色。对于免疫组化,从包埋于Tissue-Tek O.C.T.化合物中并用丙酮固定的冷冻肝脏组织进行切片。使用0.03%H2O2封闭内源性过氧化酶活性5分钟,然后与Block Ace(Dainippon Sumitomo Pharma Co.Ltd.,Japan)一起温育10分钟。在室温用抗-F4/80抗体(BMA Biomedicals,Switzerland)的200倍稀释液温育切片过夜。在与二抗(HRP-山羊抗大鼠抗体,Invitrogen,USA)一起温育之后,使用3,3’-二氨基联苯胺/H2O2溶液(Nichirei Bioscience Inc.,Japan)进行酶-底物反应。

[1064] 为定量分析纤维化、脂肪沉积和炎症区域,使用数码相机(DFC280;Leica,Germany)在200倍放大倍数下捕获中心静脉周围天狼星红染色、油红染色及F4/80免疫染色切片的明视野图像,并使用ImageJ软件(美国国立卫生研究院(National Institute of Health),USA)测量5个视野/切片中的阳性区域。

[1065] 对于定量PCR,使用RNAiso(Takara Bio Inc.,Japan)根据制造商的说明书自肝脏样品提取总RNA。使用最终体积为20μL的含有4.4mM $MgCl_2$(F.Hoffmann-La Roche Ltd.,Switzerland)、40U RNA酶抑制剂(Toyobo Co.,Ltd.,Japan)、0.5mM dNTP(Promega

Corporation,USA)、6.28μM随机六聚体(Promega Corporation)、5×第一链缓冲液(Promega)、10mM二硫苏糖醇(Invitrogen)及200U MMLV-RT(Invitrogen)的反应混合物逆转录1μg RNA。在37℃进行反应1小时,随后在99℃5分钟。使用实时PCR DICE和SYBR预混物Taq(Takara Bio)进行实时PCR。为计算相对mRNA表达水平,各基因的表达相对于参考基因36B4的表达进行校正(基因符号:Rplp0)。PCR-引物序列如下:36B4:正向5'-TTCCAGGCTTTGGGCATCA-3';反向5'-ATGTTCAGCATGTTCAGCAGTGTG-3';α-SMA:正向5'-AAGAGCATCCGACACTGCTGAC-3';反向5'-AGCACAGCCTGAATAGCCACATAC-3';TIMP-1:正向5'-TGAGCCCTGCTCAGCAAAGA-3';反向5'-GAGGACCTGATCCGTCCACAA-3';胶原1型:正向5'-CCAACAAGCATGTCTGGTTAGGAG-3';反向5'-GCAATGCTGTTCTTGCAGTGGTA-3';TGF-β:MA030397正向5'-GTGTGGAGCAACATGTGGAACTCTA-3';反向5'-TTGGTTCAGCCACTGCCGTA-3'。基因标识符如下:36B4:核糖体蛋白,大型,P0,α-SMA:肌肉肌动蛋白,α2,平滑肌,主动脉(Acta2),Timp-1:金属蛋白酶1的肌肉组织抑制剂(Timp1),转录变体1,胶原1型:肌肉胶原,I型,α2(Col1a2),TGF-β:转化生长因子β。

[1066] 对于治疗期5-9周,使用Bonferroni多重比较测试使用GraphPad Prism 4(GraphPad Software Inc.,USA)进行统计学分析。对于治疗期7-9周,使用Student's t检验使用GraphPad Prism 4进行t统计学分析。P值<0.05视为统计显著。当单尾t检验返回的P值<0.10时鉴定有朝向统计学显著的趋势或倾向。结果表示为均值±标准偏差(SD)。

[1067] 各研究组含有8只用体积为1mL/kg的介质或PEG-化合物1皮下每周两次处理的STAM小鼠。在9周时将动物处死。研究组如下:

[1068] 第1组:介质。八只5至9周龄的NASH小鼠每周两次皮下施用体积为1mL/kg的介质。

[1069] 第2组:低剂量PEG-化合物1。八只5至9周龄的NASH小鼠每周两次皮下施用剂量为1mg/kg的补充有PEG-化合物1的介质。

[1070] 第3组:高剂量PEG-化合物1。八只5至9周龄的NASH小鼠每周两次皮下施用剂量为3mg/kg的补充有PEG-化合物1的介质。

[1071] 第4组:介质。八只7至9周龄的NASH小鼠每周两次皮下施用体积为1mL/kg的介质。

[1072] 第5组:高剂量PEG-化合物1。八只7至9周龄的NASH小鼠每周两次皮下施用剂量为3mg/kg的补充有PEG-化合物1的介质。

[1073] 每日监测存活力、临床症状和行为。在处理之前记录体重。在各次施用之后约60分钟观察到小鼠毒性、濒死及死亡的显著临床症状。在研究结束时,通过在乙醚麻醉(Wako Pure Chemical Industries)下直接心脏穿刺通过放血将动物处死。

[1074] 结果

[1075] 体重变化示于图19。

[1076] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),在治疗期期间体重逐渐增加。在第11、13、15、16、18、19、20天和第22天至第28天低PEG-化合物1组的平均体重显著低于介质组。第10天至第28天高PEG-化合物1组的平均体重显著低于介质组。无动物显示出一般健康状况恶化。

[1077] 对于治疗期7-9周(第4和5组),在治疗期期间体重逐渐增加。在第5、6、9天及第11天至第14天高PEG-化合物1组的平均体重显著低于介质组。无动物显示一般健康状况恶化。

[1078] 总食品消耗示于图20。

[1079] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),介质组与PEG-化合物1处理组之间的总食品消耗

无显著差异(介质:130±4g/小鼠,低PEG-化合物1:130±3g/小鼠,高PEG-化合物1:131±3g/小鼠)。

[1080] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组的总食品消耗倾向于增加(介质:62±3g/小鼠,高PEG-化合物1:68±2g/小鼠)。

[1081] 处死时的体重示于图21和表10中。

[1082] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),在处死时,与介质组相比PEG-化合物1处理组显示平均体重显著降低(介质:21.7±1.4g,低PEG-化合物1:19.5±1.4g,高PEG-化合物1:18.9±1.6g)。

[1083] 对于治疗期7-9周(第4和5组),在处死时,与介质组相比,高PEG-化合物1组显示平均体重显著降低(介质:21.5±1.4g,高PEG-化合物1:19.8±1.0g)。

[1084] 肝脏重量及肝-体重比示于图22及图23及表10中。

[1085] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),与介质组相比,PEG-化合物1处理组显示出平均肝脏重量显著降低(介质:1511±66mg,低PEG-化合物1:1163±117mg,高PEG-化合物1:970±237mg)。与介质组相比PEG-化合物1处理组显示出平均肝-体重比显著降低(介质:7.0±0.4%,低PEG-化合物1:6.0±0.5%,高PEG-化合物1:5.1±0.9%)。

[1086] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组显示出平均肝脏重量显著降低(介质:1364±126mg,高PEG-化合物1:1008±135mg)。与介质组相比高PEG-化合物1组显示出平均肝-体重比显著降低(介质:6.4±0.5%,高PEG-化合物1:5.1±0.8%)。

[1087] 表10.体重和肝重量

[1088]

参数 (均值 ±SD)	介质 (5-9周处理) (n=8)	低PEG-化合物1 (5-9周处理) (n=8)	高PEG-化合物1 (5-9周处理) (n=8)	介质 (7-9周处理) (n=8)	高PEG-化合物1 (7-9周处理) (n=8)
体重(g)	21.7 ± 1.4	19.5 ± 1.4	18.9 ± 1.6	21.5 ± 1.4	19.8 ± 1.0
肝重量(mg)	1511 ± 66	1163 ± 117	970 ± 237	1364 ± 126	1008 ± 135

[1089]

肝-体重比(%)	7.0 ± 0.4	6.0 ± 0.5	5.1 ± 0.9	6.4 ± 0.5	5.1 ± 0.8

[1090] 全血葡萄糖示于图24和表11中。

[1091] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),与介质组相比高PEG-化合物1组显示出平均全血葡萄糖显著降低。与介质组相比,在低PEG-化合物1组中血糖水平倾向于降低(介质:691±114mg/dL,低PEG-化合物1:566±119mg/dL,高PEG-化合物1:493±136mg/dL)。

[1092] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组显示全血葡萄糖显著降低(介质:656±85mg/dL,高PEG-化合物1:454±104mg/dL)。

[1093] 血浆ALT示于图25和表11中。

[1094] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),在介质组与PEG-化合物1处理组之间血浆ALT含量无显著差异(介质:82±66U/L,低PEG-化合物1:64±36U/L,高PEG-化合物1:108±78U/L)。

[1095] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组的血浆ALT含量倾向于降低(介质:229±285U/L,高PEG-化合物1:36±8U/L)。

[1096] 血浆甘油三酯水平示于图26及表11中。

[1097] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),与介质组相比PEG-化合物1处理组显示出血浆甘油三酯水平显著降低(介质:322±341mg/dL,低PEG-化合物1:75±39mg/dL,高PEG-化合物1:64±22mg/dL)。

[1098] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组显示出血浆甘油三酯水平显著降低(介质:139±39mg/dL,高PEG-化合物1:59±51mg/dL)。

[1099] 总血浆胆固醇水平示于图27和表11中。

[1100] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),与介质组相比高PEG-化合物1组中的血浆总胆固醇水平倾向于降低。在介质组与低PEG-化合物1组之间血浆总胆固醇水平无显著差异(介质:121±20mg/dL,低PEG-化合物1:114±19mg/dL,高PEG-化合物1:98±31mg/dL)。

[1101] 对于治疗期7-9周(第4和5组),介质组与高PEG-化合物1组之间血浆总胆固醇水平无显著差异(介质:121±19mg/dL,高PEG-化合物1:115±29mg/dL)。

[1102] 肝脏甘油三酯水平示于图28和表11中。

[1103] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),与介质组相比PEG-化合物1处理组显示出肝脏甘油三酯含量显著降低(介质:54±13mg/g肝脏,低PEG-化合物1:25±7mg/g肝脏,高PEG-化合物1:22±9mg/g肝脏)。

[1104] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组显示肝脏甘油三酯水平显著降低(介质:53±11mg/g肝脏,高PEG-化合物1:17±6mg/g肝脏)。

[1105] 肝脏胆固醇水平示于图29和表11中。

[1106] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),介质组与PEG-化合物1处理组之间的肝脏胆固醇含量无显著差异(介质:2.9±0.7mg/g肝脏,低PEG-化合物1:2.9±0.6mg/g肝脏,高PEG-化合物1:3.1±0.4mg/g肝脏)。

[1107] 对于治疗期7-9周(第4和5组),介质组与PEG-化合物1处理组之间的肝脏胆固醇含量无显著差异(介质:3.1±0.8mg/g肝脏,高PEG-化合物1:3.6±1.5mg/g肝脏)。

[1108] 表11.血液及肝脏生物化学

[1109]

参数 (均值± SD)	介质 (5-9周处理) (n=8)	低PEG-化合物1 (5-9周处理) (n=8)	高PEG-化合物1 (5-9周处理) (n=8)	介质 (7-9周处理) (n=8)	高PEG-化合物1 (7-9周处理) (n=8)
全血葡萄糖 (mg/dL)	691 ± 114	566 ± 119	493 ± 136	656 ± 85	454 ± 104
血浆 ALT (U/L)	82 ± 66	64 ± 36	108 ± 78	229 ± 285	36 ± 8
血浆甘油三酯 (mg/dL)	322 ± 341	75 ± 39	64 ± 22	139 ± 39	59 ± 51
血浆总胆固醇 (mg/dL)	121 ± 20	114 ± 19	98 ± 31	121 ± 19	115 ± 29
肝脏甘油三酯 (mg/g肝脏)	54 ± 13	25 ± 7	22 ± 9	53 ± 11	17 ± 6
肝脏胆固醇 (mg/g肝脏)	2.9 ± 0.7	2.9 ± 0.6	3.1 ± 0.4	3.1 ± 0.8	3.6 ± 1.5

[1110] 组织学分析:HE染色和NAFLD活性评分

[1111] HE染色切片的代表性显微照片示于图30A-B中,NAFLD活性评分的结果示于图31、图32A-C和表12中。(NALFD活性评分(图31)为脂肪变性、肝细胞膨胀和小叶炎症评分)。表12中所示的结果基于表13中所示的评分标准。

[1112] 表12.NAFLD活性评分

[1113]

组	n	评分											NAS (均值 ±SD)
		脂肪变性				小叶炎症				肝细胞膨胀			
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	

[1114]

介质 (5-9周处理)	8	-	6	2	-	-	-	5	3	-	-	8	5.6±0.7
低PEG-化合物1 (5-9周处理)	8	3	5	-	-	-	4	4	-	-	1	7	4.0±1.2
高PEG-化合物1 (5-9周处理)	8	4	4	-	-	-	5	3	-	2	4	2	2.9±1.2
介质 (7-9周处理)	8	-	5	3	-	-	-	6	2	-	-	8	5.6±0.7
高PEG-化合物1 (7-9周处理)	8	5	3	-	-	-	6	2	-	3	4	1	2.4±1.3

[1115] 表13NAS化合物的定义

[1116]

项目	分数	程度
脂肪变性	0	<5%
	1	5-33%
	2	>33-66%
	3	>66%
肝细胞膨胀	0	无
	1	少量膨胀细胞
	2	许多细胞/显著膨胀
小叶炎症	0	无病灶
	1	<2病灶/200x
	2	2-4病灶/200x
	3	>4病灶/200x

[1117] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),来自介质组的肝脏切片表现出严重小泡和大泡脂肪沉积、肝细胞膨胀和炎症性细胞浸润。与介质组相比PEG-化合物1处理组显示出脂肪沉积、肝细胞膨胀和炎症性细胞浸润的显著改善(降低),NAFLD活性评分(NAS)显著降低(介质:5.6±0.7,低PEG-化合物1:4.0±1.2,高PEG-化合物1:2.9±1.2)。

[1118] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组显示出脂肪沉积、肝细胞膨胀和炎症性细胞浸润显著改善(降低)及NAS显著降低(介质:5.6±0.7,高PEG-化合物1:2.4±1.3)。

[1119] 组织学分析:天狼星红染色

[1120] 天狼星红染色的结果示于图33A-B、图34(显示出代表性染色)和表14中。

[1121] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),来自介质组的肝脏切片表现出肝脏小叶的中心

周围区域中的胶原沉积。与介质组相比PEG-化合物1处理组中纤维化区域(天狼星红阳性面积)显著减小(介质:1.10±0.24%,低PEG-化合物1:0.71±0.17%,高PEG-化合物1:0.71±0.19%)。

[1122] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组中的纤维化区域显著减小(介质:1.25±0.29%,高PEG-化合物1:0.75±0.21%)。

[1123] 组织学分析:F4/80免疫组化分析

[1124] F4/80免疫组化分析的结果示于图35A-B、图36(显示出代表性染色)和表14中。

[1125] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),来自介质组的肝脏切片的F4/80免疫染色表现出肝脏小叶中的F4/80+细胞积聚。介质组与PEG-化合物1处理组之间的F4/80+细胞的数量和大小以及炎症区域(F4/80-阳性区域)的百分比无显著差异(介质:6.9±0.9%,低PEG-化合物1:7.6±1.5%,高PEG-化合物1:7.1±0.7%)。

[1126] 对于治疗期7-9周(第4和5组),介质组与高PEG-化合物1组之间的F4/80+细胞的数量和大小以及炎症区域的百分比无显著差异(介质:7.1±0.7%,高PEG-化合物1:6.3±1.1%)。

[1127] 组织学分析:油红染色

[1128] 油红染色的结果示于图37A-B(显示出代表性染色)、图38和表14中。

[1129] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),来自介质组的肝脏切片表现出肝细胞的小泡和大泡脂肪沉积。与介质组相比PEG-化合物1处理组脂肪沉积区域(油红阳性区域)的百分比显著减小(介质:30.4±4.8%,低PEG-化合物1:20.5±8.8%,高PEG-化合物1:16.2±6.1%)。

[1130] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组的脂肪沉积区域的百分比显著减小(介质:30.7±5.6%,高PEG-化合物1:13.9±7.7%)。

[1131] 表14.组织学分析

[1132]

参数 (均值 ±SD)	介质 (5-9周处理) (n=8)	低PEG-化合物1(5-9周处理) (n=8)	高PEG-化合物1 (5-9周处理) (n=8)	介质 (7-9周处理) (n=8)	高PEG-化合物1 (7-9周处理) (n=8)
天狼星红阳性区域(%)	1.10 ± 0.24	0.71 ± 0.17	0.71 ± 0.19	1.25 ± 0.29	0.75 ± 0.21
F4/80阳性区域(%)	6.9 ± 0.9	7.6 ± 1.5	7.1 ± 0.7	7.1 ± 0.7	6.3 ± 1.1
油红阳性区域(%)	30.4 ± 4.8	20.5 ± 8.8	16.2 ± 6.1	30.7 ± 5.6	13.9 ± 7.7

[1133] 基因表达分析

[1134] α-SMA、TIMP-1、胶原1型和TGF-β的基因表达分析的结果示于图39A-D和表15中。

[1135] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),与介质组相比高PEG-化合物1组中的α-SMA mRNA表达水平倾向于下调。介质组与低PEG-化合物1组之间的α-SMA mRNA表达水平无显著差异(介质:1.00±1.14,低PEG-化合物1:0.52±0.60,高PEG-化合物1:0.39±0.30)。

[1136] 对于治疗期7-9周(第4和5组),介质组与高PEG-化合物1组之间的α-SMA mRNA表达水平无显著差异(介质:1.00±0.88,高PEG-化合物1:1.14±1.01)。

[1137] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),与介质组相比低PEG-化合物1组中的TIMP-1mRNA表达水平倾向于下调。介质组与高PEG-化合物1组之间的TIMP-1mRNA表达水平无显著差异(介质:1.00±0.39,低PEG-化合物1:0.73±0.28,高PEG-化合物1:0.88±0.31)。

[1138] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组中的TIMP-1mRNA表达水平倾向于下调(介质:1.00±0.57,高PEG-化合物1:0.65±0.34)。

[1139] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),介质组与PEG-化合物1处理组之间的胶原1型mRNA表达水平无显著差异(介质:1.00±0.22,低PEG-化合物1:0.88±0.24,高PEG-化合物1:0.89±0.34)。

[1140] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组中的胶原1型mRNA表达显著降低(介质:1.00±0.29,高PEG-化合物1:0.69±0.20)。

[1141] 对于治疗期5-9周(第1、2和3组),与介质组相比低PEG-化合物1组中的TGF-βmRNA表达水平倾向于下调。介质组与高PEG-化合物1组之间的TGF-βmRNA表达水平无显著差异(介质:1.00±0.24,低PEG-化合物1:1.07±0.60,高PEG-化合物1:0.90±0.26)。

[1142] 对于治疗期7-9周(第4和5组),与介质组相比高PEG-化合物1组中的TGF-βmRNA表达水平倾向于下调(介质:1.00±0.45,高PEG-化合物1:0.77±0.22)。

[1143] 表15.基因表达分析

[1144]

参数 (均值± SD)	介质 (5-9周处理) (n=8)	低PEG-化合物1 (5-9周处理) (n=8)	高PEG-化合物1 (5-9周处理) (n=8)	介质 (7-9周处理) (n=8)	高PEG-化合物1 (7-9周处理) (n=8)
α-SMA	1.00 ± 1.14	0.52 ± 0.60	0.39 ± 0.30	1.00 ± 0.88	1.14 ± 1.01

[1145]

TIMP-1	1.00 ± 0.39	0.73 ± 0.28	0.88 ± 0.31	1.00 ± 0.57	0.65 ± 0.34
胶原1型	1.00 ± 0.22	0.88 ± 0.24	0.89 ± 0.34	1.00 ± 0.29	0.69 ± 0.20
TGF-β	1.00 ± 0.24	1.07 ± 0.60	0.90 ± 0.26	1.00 ± 0.45	0.77 ± 0.22

[1146] 如上文所指出的,通过测量肝甘油三酯水平的生物化学测定和用苏木素和伊红或油红O染色肝脏切片后的组织学分析所评估的,PEG-化合物1降低肝脂肪积聚。文献中已报导天然FGF21的此种抗脂肪肝活性取决于小鼠中的脂联素而定(参见Lin等,Cell Metab.17:779-789(2013);Holland等,Cell Metab17:790-797(2013),其各自通过提述以其整体并入本文)。因此,在从处理小鼠制备的末端血清样品中测量总脂联素的浓度。遵循制造商的方案使用市售ELISA试剂盒(Alpco目录号47-ADPMS-E01)测量血清脂联素。

[1147] 在所有测试的末端时间点,与对应介质组相比,每周两次施用3mg/kg PEG-化合物1统计学显著地增加血清总脂联素(图61)。此结果与脂联素有助于PEG-化合物1于Stelic NASH模型中的功效的假设一致。

[1148] 讨论

[1149] 本实施例显示了测试PEG-化合物1在预防性与治疗性NASH模型中的功效的实验的结果。在预防性模型中,在此模型中在脂肪肝明显时起始处理(自第5周起始,即第5-9周组)。在治疗性模型中,在此模型中NASH明显时起始治疗(自第7周起始,即第7-9周组)。因此,预防性与治疗性模型中证明了PEG-化合物1的治疗性功效。

[1150] 在两种处理模型中用PEG-化合物1处理显著减小纤维化区域(通过天狼星红染色检测),证明PEG-化合物1的抗纤维化作用。PEG-化合物1处理也降低α-SMA、TIMP-1和胶原1型的mRNA表达水平,进一步支持PEG-化合物1的抗纤维化特性。用PEG-化合物1处理还导致

体重及肝脏重量、肝-体重比、血糖、血浆及肝脏甘油三酯、NAFLD活性评分、脂肪沉积区域(通过油红染色检测)统计学显著地降低。

[1151] 所有PEG-化合物1处理组显示出NAS显著降低,其是评估NASH活性的一个临床终点(Sanyal AJ.等,Hepatology,2011;54:344)。

[1152] 此外,如全血葡萄糖含量、血浆甘油三酯水平和肝脏甘油三酯含量降低所证明的,用PEG-化合物1处理改善脂质及葡萄糖代谢。

[1153] 总之,在本发明研究中PEG-化合物1显示出与改善的脂质及葡萄糖代谢相关的抗NASH、抗纤维化作用。

[1154] 实施例14

[1155] 包含融合配偶体的修饰的FGF-21多肽的溶解度评估

[1156] 本实施例描述了包含融合配偶体的修饰的FGF-21多肽的相对溶解度的测量。结果指示化合物能够配制至相对较高的浓度,由此允许更便利地施用有效剂量。

[1157] 方法

[1158] 相对溶解度通过序贯活塞流浓缩循环进行,随后大小排阻色谱分析来评估。将于20mM组氨酸缓冲液pH 7.0中以类似但不相同起始浓度配制的样品移液至3kDa分子量截留离心浓缩器中并在4℃在4,750RPM旋转15分钟、15分钟和30分钟的循环。在旋转循环之间,自浓缩装置移出等分试样并进行分析型大小排阻色谱分析(aSEC)(在用PBS pH 7.2缓冲液平衡的GE Healthcare Superdex S-75 10/300GL柱上)以确定溶液中HMW和单体物种的浓度。

[1159] 用NanoDrop分光光度计通过280nm处的吸光度确定总浓度。相对于SEC色谱图迹线中的单体峰,通过高分子量峰的曲线下面积计算来确定高分子量百分比。绘制所得数据点以将观察测试条件下从最难溶构建体至最可溶的排列顺序可视化,由数据点产生的斜率越低,测试条件下的蛋白变体越稳定。

[1160] 结果

[1161] 包含融合配偶体的修饰的FGF-21多肽的相对溶解度通过测量高分子量(HMW)聚集体的形成与蛋白浓度的函数来确定。在给定浓度下较低的HMW聚集体形成指示较大的溶解度,由此使得能够配制至较高浓度。

[1162] 结果图示于图41中。测试化合物的活塞流溶解度曲线的斜率示于下表16中(较低值表示较少聚集体形成且因此能够配制为较高浓度)。

[1163] 表16.包含融合配偶体的修饰的FGF-21多肽的活塞流溶解度结果

[1164]

FGF21- PKE Adnectin(2)融合化合物	活塞流溶解度曲线斜率
化合物101	2.72
化合物102	0.31
化合物103	n.d.
化合物104	0.36
化合物105	0.88
化合物106	0.83
化合物107	0.37

[1165]

化合物108	0.68
化合物109	0.76
化合物110	0.25
化合物111	0.65
化合物112	0.05
化合物113	0.47

[1166] 实施例15:评估PEG-化合物1在患有非酒精性脂肪性肝炎的成人中的安全性、药代动力学和药效学效果的随机、双盲、安慰剂对照、平行组、多重剂量研究

[1167] 在美国,NASH是成人中肝硬化的主要原因之一;至多20%的患有NASH的成人患上肝硬化。NASH的组织学研究结果包括肝脏中不同细胞外纤维化量的脂肪变性、炎症及膨胀变性,并在不存在显著醇使用情况下出现。NASH患者表现出自心脏血管、肝脏及癌症相关的死亡增加的死亡率。不可获得特定的药物治疗选项。

[1168] 此实施例描述了评估患有NASH的成人中PEG-化合物1(SEQ ID NO:201的多肽,其中pAF连接至30kDa PEG)的安全性、药代动力学及药效学效果的随机、双盲和安慰剂对照的人临床试验,包括通过MRI以肝脂肪分数(%)评估安全性、耐受性和变化。

[1169] 研究群体:约90个符合所有如下标准的21至75岁的男性及女性个体入选:在筛选1年内进行的肝脏活检,以NASH CRN纤维化分期1-3或使用不同评分系统获得的等效结果记录NASH的结果;BMI≥30(重量(kg)/[高度(m)]^2);脂肪肝指数≥60;通过在筛选时段期间进行MRI得到肝脂肪分数(%)≥10%。受试者经历筛选评估以在随机分组之前42天内确定合格性。

[1170] 若有证明并发疾病包括长期肝病(除NASH之外)、肝硬化、失代偿性肝病、不受控制的糖尿病及一些其他医学病况或病史,则从研究排除个体。

[1171] 在第1天给药活性药物或安慰剂之前约14至35天进行基线扫描,包括通过磁共振成像(MRI)得到的肝脂肪含量、通过磁共振弹性成像(MRE)得到的肝硬度和通过双能X射线吸光测定法(DXA)得到的身体组成。额外基线患者评估包括确定体重、BMI和腰围。

[1172] 治疗方案:向患有NASH的成人每日或每周施用PEG-化合物1持续16周。在适当使用具有安慰剂的注射器进行7天患者训练之后,皮下自我使用治疗。在第1天将约90个符合条件的个体随机分至三个处理组之一(每组30个),然后对其进行如下治疗(在第1天起始):治

疗A:10mg PEG-化合物1,每天;处理B:20mg PEG-化合物1,每周;处理C:安慰剂,每天。使用基于当前美国糖尿病协会标准(American Diabetes Association criteria)的2型糖尿病诊断(是或否)将个体分级。

[1173] 所有个体每天一次自我施用PEG-化合物1或安慰剂。PEG-化合物1以10mg/mL溶液的形式提供。对于治疗B(20mg/周)组,在第1天(D 1)和第2-7天各同时给予2个1mL的注射剂,注射剂为安慰剂。为保持为盲化,其他两组也具有两个第1天注射,其中之一或两者含有安慰剂。在第2-7天,注射为1mL的PEG-化合物1(治疗A组)或1mL安慰剂(治疗C组)。持续治疗直至第112天(D 112)(即16周)。

[1174] 患者评估:在D-7(仅安慰剂引入开始时)、D 1、D 15、D 29、D 43、D57、D 86和D 112实施患者评估。进行体检、生命征象测量、12导联心电图(ECG)、临床实验室评估和MRI、MRE和DXA扫描。在第112(+/-1周)天进行MRI、MRE和DXA治疗末期扫描。在约D 142和D 292实施随访,在最后给药之后6个月(+/-2周)实施DXA后续扫描。收集血液以进行药代动力学(PK)和药效学(PD)分析。通过经验证分析测量PEG-化合物1的血清浓度(总计及C末端完整)。通过开发的群体PK模型评估研究中所收集的所有PK数据以评估基于模型的参数,如CL/F、Vc/F、Ka等。此外,个体暴露参数(如稳定状态下的Cavg、Cmin、Cmax和AUC)的评估源自基于模型的参数。密切监测整个研究中个体的不良事件。

[1175] 主要终点:主要目的为通过MRI评估患有活检证实的NASH的患者中每天或每周剂量的PEG-化合物1对安全性、耐受性及肝脂肪分数(%)的效果。这通过由质子密度脂肪级分肝MRI确定的基线至第16周的肝脂肪分数百分比变化(%)的主要终点评估。基线定义为所有终点的最后非缺失给药前测量。预测与安慰剂相比,向患有NASH的患者每天或每周施用PEG-化合物1维持16周会较大程度降低肝脂肪分数(%)。主要终点还包括安全性终点,包括AE、严重AE及特别感兴趣的事件(包括注射部位评估、导致中断的AE和死亡)的发生以及临床实验室测试、生命体征测量、ECG、体检和在特定时间点通过DXA扫描收集的骨矿物质密度(BMD)中的显著异常。

[1176] 次要终点:次要终点包括药代动力学终点和免疫原性终点。药代动力学终点将通过PEG-化合物1(总计和C末端完整)血清浓度的基于模型的药代动力学参数来评估:由所选时间点实施的测量确定的Cavg、Cmin、Cmax和AUC(TAU)。免疫原性终点通过抗PEG-化合物1抗体和抗-FGF21抗体的患者含量评估。确定PEG-化合物1(总计和C末端完整)血清浓度的基于模型的药代动力学参数。主要PK参数包括:CL/F(静脉外施用后的表观清除率);V/F(静脉外施用后的表观分布体积);和Ka(注射部位至血液循环的吸收速率常数)。自主要PK参数得到次要PK参数,包括Cmax(最大计算血清浓度);T1/2(清除半衰期);AUC(TAU)(一个给药时间间隔中的浓度-时间曲线下面积);Cmin(给药时间间隔内的最小浓度);及Cavg(给药时间间隔内的平均浓度)。

[1177] 分析:使用轴向重复测量分析来分析实施基线和至少一种基线后测量的治疗群体在第16周相对于基线的肝脂肪分数变化(%)。模型包括处理组、作为主要效果的周和周-治疗相互作用和作为协变量的基线肝脂肪分数(%)和基线糖尿病状态。非结构化协变量矩阵用以表示各个体内重复测量的相关性。模型提供点治疗内及治疗之间相对于基线的平均变化的评估、标准误和双边90%置信区间。计算P值以比较两个PEG-化合物1处理组(每天10mg及每周20mg)中的每一项中的治疗效果与安慰剂处理组第16周的治疗效果。各处理组比较

在单边0.05显著性水平下进行。不针对多重性进行调节。

[1178] 研究PEG-化合物1(总计和C末端完整)暴露与其他生物标记或终点之间的关系以表现出剂量反应关系。还分析了这些测量以显示其与肝脂肪分数变化的关系,和这些生物标记如何预测或涉及该变化。这些终点和生物标记包括通过MRE得到的肝脏硬度变化、体重、BMI、腰围、通过DXA得到的身体组成、葡萄糖稳态、胰岛素敏感性、空腹脂质、骨骼稳态、ALT和AST以及与疾病进展和并发症的风险相关的生物标志物。NASH通常与降低的脂联素水平(低脂联素血症)相关和降低的水平与更大规模的坏死性炎症相关。据信脂联素通过增强脂肪氧化和降低肝脂质存储而增加胰岛素敏感性。预期血清总脂联素水平通过PEG-化合物1治疗增加。还预期在NASH患者中PEG-化合物1治疗降低空腹甘油三酯、LDL、ApoB、ApoC3且增加HDL。

[1179] 使用如上文所述的非结构化协变量矩阵实施研究结果的分析表现出与安慰剂对照相比用PEG-化合物1(在每天与每周施用研究组中)治疗的患者中肝脂肪分数统计显著($p<0.05$)降低。

[1180] 实施例16

[1181] 本实施例进一步探索了非酒精性脂肪性肝炎(NASH)的STAM模型中PEG-化合物1的功效。在9至12周龄或至15周龄之间处理小鼠。

[1182] 方法

[1183] 提供PEG-化合物1和介质(20mM Tris/250mM蔗糖,pH 8.3)。为制备给药溶液,通过用提供的介质适当稀释制备PEG-化合物1溶液。

[1184] C57BL/6小鼠(怀孕15天的雌性)获自Japan SLC,Inc.(Shizuoka,Japan)。将用于研究的所有动物豢养且根据动物使用的日本药理学会标准看护。在60个雄性小鼠中通过在出生之后单次皮下注射200μg链脲霉素(STZ,Sigma-Aldrich,USA)溶液2天和在4周龄之后用高脂肪膳食(HFD,57kcal%脂肪,目录号:HFD32,CLEA Japan,Inc.,Japan)饲喂来诱导NASH。

[1185] PEG-化合物1和介质通过以3mg/kg的剂量按1mL/kg的体积每周两次皮下途径施用。使动物维持于SPF设备中处于受控的温度(23±2℃)、湿度(45±10%)、照明(12小时人工光和暗循环;8:00至20:00有光照)及空气交换的条件下。实验房间维持高压(20±4Pa)以预防设备污染。将动物豢养于聚碳酸酯笼KN-600(Natsume Seisakusho,Japan)中,每笼最多4只小鼠。使用灭菌的Paper-Clean(Japan SLC)铺垫且一周替换一次。提供任意可取的灭菌固体HFD,置于笼顶的金属盖中。从装备有橡胶塞和吸管的水瓶任意提供纯水。水瓶一周替换一次,清洁并在高压釜中灭菌且重复使用。通过耳环上雕刻的数字识别小鼠。用特定识别代码标记各笼。

[1186] 使用LIFE CHECK(EIDIA Co.Ltd.,Japan)在全血中测量非空腹血糖。对于血浆生物化学分析,将血液收集于具有抗凝血剂的聚丙烯管(Novo-Heparin,Mochida Pharmaceutical Co.Ltd.,Japan)中并在4℃以1,000xg离心15分钟。收集上清液并储存于-80℃直至使用。通过FUJI DRI-CHEM 7000(Fujifilm Corporation,Japan)测量血浆ALT、甘油三酯和总胆固醇水平。

[1187] 通过Folch's法获得肝脏总脂质提取物(Folch J.等,J.Biol.Chem.1957;226:497)。使肝脏样品在氯仿-甲醇(2:1,v/v)中均质化并在室温温育过夜。在用氯仿-甲醇-水

(8:4:3,v/v/v)洗涤之后,使提取物蒸发至干燥并溶解于异丙醇中。分别通过甘油三酯E-测试和胆固醇E-测试测量肝脏甘油三酯和胆固醇含量(Wako Pure Chemical Industries,Ltd.,Japan)。

[1188] 对于HE染色,从用Bouin's溶液预固定的肝脏组织石蜡块切片并用Lillie-Mayer's苏木素(Muto Pure Chemicals Co.,Ltd.,Japan)和伊红(Wako Pure Chemical Industries)染色。根据Kleiner的标准计算非酒精性脂肪肝病(NAFLD)活性评分(NAS)(Kleiner DE.等,Hepatology,2005;41:1313)。为观察胶原沉积,用苦天狼星红溶液(Waldeck,Germany)染色Bouin's固定的肝脏切片。为观察大泡和小泡脂肪,从用10%中性缓冲福尔马林预固定、包埋于Tissue-Tek O.C.T.化合物(Sakura Finetek Japan Co.Ltd.,Japan)中的冷冻肝脏组织进行冷冻切片并用油红O(Sigma-Aldrich)染色。对于免疫组化,从包埋于Tissue-Tek O.C.T.化合物中并用丙酮固定的冷冻肝脏组织进行切片。使用0.03%H2O2封闭内源性过氧化酶活性5分钟,然后与Block Ace(Dainippon Sumitomo Pharma Co.Ltd.,Japan)一起温育10分钟。在4℃用抗-F4/80(BMA Biomedicals,Switzerland)抗体的200倍稀释液温育切片过夜。在与二抗(HRP-山羊抗大鼠抗体,Invitrogen,USA)一起温育之后,使用3,3'-二氨基联苯胺/H2O2溶液(Nichirei Bioscience Inc.,Japan)进行酶-底物反应。

[1189] 用布安氏溶液(Bouin's solution)固定肾脏。使用通过0.5%过碘酸氧化并用Schiff's试剂染色(两者皆来自Wako Pure Chemical Industries)的PAS染色切片观察肾小球结构。为观察胶原沉积,用苦天狼星红溶液(Waldeck)染色肾脏切片。

[1190] 为定量分析纤维化、脂肪沉积和炎症区域,使用数码相机(DFC280;Leica,Germany)在200倍放大倍数下捕获肝脏中心静脉周围或肾间质性区域的天狼星红染色、油红染色和F4/80免疫染色切片的明视野图像,并使用ImageJ软件(美国国立卫生研究院,USA)测量5个视野/切片中的阳性区域。

[1191] 使用Bonferroni多重比较测试经GraphPad Prism 4(GraphPad Software Inc.,USA)进行统计学分析。P值<0.05视为统计显著。当单尾t检验返回的P值<0.05时假定有该趋势或倾向。结果以平均值±SD表示。

[1192] 结果

[1193] 研究组如下(概述于下表17中)。

[1194] 第1组:介质。对二十只在9至12周龄或至15周龄的NASH小鼠每周两次皮下施用体积为1mL/kg的介质。

[1195] 第2组:PEG-化合物1。对二十只在9至12周龄或至15周龄的NASH小鼠每周两次皮下施用剂量为3mg/kg的补充有PEG-化合物1的介质。

[1196] 表17.治疗概述。

[1197]

组	小鼠编号	小鼠	测试物质	剂量(mg/kg)	体积(mL/kg)	疗法	处死(周)
1	20	STAM	介质	-	1	SC, 每周两次, 9周-12周或15周	12,15
2	20	STAM	PEG-化合物1	3	1	SC, 每周两次, 9周-12周或15周	12,15

[1198] 每天监测存活力、临床症状和行为。在处理之前记录体重。在各次施用之后约60分钟观察到小鼠毒性、濒死和死亡的显著临床症状。通过在乙醚麻醉(Wako Pure Chemical Industries)下直接心脏穿刺通过放血将动物处死。在12周龄将所有组中的六只动物处死以进行如下分析,并将剩余动物保留直至15周龄处死那天。

[1199] 在治疗期期间所有组中的体重无明显变化。介质组与PEG-化合物1组之间的平均体重无显著差异。

[1200] 在治疗期期间,如下小鼠在达到第40天之前死亡:在介质组中20只小鼠中的八只死亡。在PEG-化合物1组中未发现动物死亡。死亡原因尚不明确且可为介质组中相关的疾病进展。个体小鼠死亡的天数为第7、17(两只小鼠)、20(两只小鼠)、34、38及40天。在介质组中5只小鼠死亡之后,决定改变原始研究方案并将每组在第6周处死的小鼠数量由8只降至6只,以试图确保各组中至少6只小鼠存活至第15周。

[1201] 在第9周与第12周之间处理的动物中,处死当天介质组和PEG-化合物1组之间的平均体重无显著差异(图42A)。同样地,在第9周与第15周之间处理的动物中,处死当天介质组和PEG-化合物1组之间的平均体重无显著差异(图42B)。

[1202] 器官重量和肝-体重比示于图43-46并概述于表18中。

[1203] 在第9周与第12周之间处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组显示出平均肝脏重量的降低趋势(图43A)。与介质组相比PEG-化合物1组中平均肝-体重比显著降低($p<0.01$)(图44A)。介质组与PEG-化合物1组之间的平均右肾脏重量无显著差异(图45A)。与介质组(图46A)相比在PEG-化合物1组中平均左肾脏重量倾向于降低。

[1204] 在第9周-15周之间处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组显著降低平均肝脏重量($p<0.001$)(图43B)和平均肝-体重比($p<0.001$)(图44B)。在介质组与PEG-化合物1组之间平均右肾脏重量(图45B)和平均左肾重量(图46B)无显著差异。

[1205] 表18.体重和器官重量结果

[1206]

参数(均值±SD)	12周介质(n=6)	12周PEG-化合物1(n=6)
体重(g)	18.0±4.7	16.0±3.9
肝重量(mg)	1389±374	973±226
肝-体重比(%)	7.7±1.1	6.1±0.7
右肾重量(mg)	143±40	110±25
左肾重量(mg)	148±37	98±26
参数(均值±SD)	15周介质(n=6)	15周PEG-化合物1(n=14)
体重(g)	16.5±4.8	15.2±2.5
肝重量(mg)	1341±374	746±161
肝-体重比(%)	8.2±1.5	5.0±1.1
右肾重量(mg)	111±26	97±24
左肾重量(mg)	101±22	90±20

[1207] 生物化学测量结果示于图47-52中并概述于下表19中。

[1208] 在第9周至第12周处理的动物中,介质组与PEG-化合物1组之间的全血葡萄糖水平无显著差异(图47A)。

[1209] 在第9周至第15周处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组中全血葡萄糖水平

显著降低(p<0.05)(图47B)。

[1210] 在第9周至第12周处理的动物中,介质组与PEG-化合物1组之间的血浆ALT水平无显著差异(图48A)。

[1211] 在第9周至第15周处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组中血浆ALT水平显著降低(p<0.01)(图48B)。

[1212] 在第9周至第12周处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组显示出血浆甘油三酯水平降低的倾向(图49A)。

[1213] 在第9周至第15周处理的动物中,介质组与PEG-化合物1组之间的血浆甘油三酯水平无显著差异(图49B)。

[1214] 在第9周至第12周处理的动物中,介质组与PEG-化合物1组之间的血浆总胆固醇无显著差异(图50A)。

[1215] 在第9周至第15周处理的动物中,介质组与PEG-化合物1组之间的血浆总胆固醇无显著差异(图50B)。

[1216] 在第9周至第12周处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组中肝脏甘油三酯含量显著降低(p<0.01)(图51A)。

[1217] 在第9周至第15周处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组中肝脏甘油三酯含量显著降低(p<0.001)(图51B)。

[1218] 在第9周至第12周处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组中肝脏胆固醇含量显著降低(p<0.01)(图52A)。

[1219] 在第9周至第15周处理的动物中,与介质组相比PEG-化合物1组中肝脏胆固醇含量显著降低(p<0.001)(图52B)。

[1220] 表19.生化测试结果

[1221]

参数(均值±SD)	12周介质(n=6)	12周PEG-化合物1(n=6)
全血葡萄糖(mg/dL)	628±268	505±231
血浆ALT(U/L)	55±30	39±21
血浆甘油三酯(mg/dL)	498±368	167±214
血浆总胆固醇(mg/dL)	195±115	162±62
肝甘油三酯(mg/g肝脏)	98±38	42±13
肝胆固醇(mg/g肝脏)	36±15	18±4
参数(均值±SD)	15周介质(n=6)	15周PEG-化合物1(n=14)
全血葡萄糖(mg/dL)	594±182	350±174
血浆ALT(U/L)	48±15	23±15
血浆甘油三酯(mg/dL)	117±24	102±57
血浆总胆固醇(mg/dL)	176±72	141±45
肝甘油三酯(mg/g肝脏)	98±31	49±19
肝胆固醇(mg/g肝脏)	39±10	19±9

[1222] 显示肝脏样品的组织学分析的代表性显微照片示于图53、55、57和59中。组织学结果的概述图示于图54、56、58和60中,并列于下表22中。

[1223] 在第9周至第12周处理的动物中,来自介质组的HE染色肝脏切片表现出严重小泡

和大泡脂肪沉积、肝细胞膨胀和炎症性细胞浸润(图53A-B)。与介质组相比,PEG-化合物1组显示脂肪沉积、肝细胞膨胀和炎症性细胞浸润的显著改进及NAS显著降低(图53C-D)。

[1224] 在第9周至第15周处理的动物中,与介质组相比,PEG-化合物1组显示脂肪沉积、肝细胞膨胀和炎症性细胞浸润的显著改进(图53E-F)及NAS显著降低(图53G-H)。

[1225] 分别对于第9周至第12周和第9周至第13周处理的动物,NALFD活性评分结果图示于图54A-B中,并概述于表20中。两个处理组中的NALFD活性评分显著降低($p<0.01$和$p<0.001$,分别对于第9周至第12周和第9周至第15周处理的动物)。

[1226] 表20.NALFD活性评分结果概述。评分组分如下表21所示。

[1227]

组	N	脂肪变性				小叶炎症				肝细胞膨胀			NAS (均值± SD)
		0	1	2	3	0	1	2	3	0	1	2	
12 周介质	6	1	4	-	1	-	2	4	-	-	-	6	4.8 ± 1.2
12 周 PEG-化合物 1	6	6	-	-	-	1	2	2	1	2	4	-	2.2 ± 0.8
15 周介质	6	1	3	1	1	-	1	5	-	-	-	6	5.2 ± 1.2
15 周 PEG-化合物 1	14	11	3	-	-	6	6	2	-	7	5	2	1.6 ± 1.2

[1228] 表21NALFD活性评分组分

[1229]

项目	评分	程度
脂肪变性	0	<5%
	1	5-33%
	2	>33-66%
	3	>66%
肝细胞膨胀	0	无
	1	少数膨胀细胞
	2	许多细胞/显著膨胀
小叶炎症	0	无病灶
	1	<2 病灶/200x
	2	2-4 病灶/200x
	3	>4 病灶/200x

[1230] 在第9周至第12周处理的动物中,来自介质组的天狼星红染色肝脏切片表现出肝脏小叶的中心周围区域中的胶原沉积(图55A-B)。如图56A中所概述的,介质组与PEG-化合物1组之间的纤维化区域无显著差异(图55C-D)。

[1231] 如图56B中所概述,在第9周至第15周处理的动物中,与介质组(图55G-H)相比,PEG-化合物1组(图55E-F)中的纤维化区域显著减少($p<0.05$)。

[1232] F4/80免疫染色切片的代表性显微照片示于图57中。

[1233] 在第9周至第12周处理的动物中,来自介质组的F4/80免疫染色肝脏切片表现出肝脏小叶中F4/80+细胞的积聚(图57A-B)。如图58A中所概述,介质组(图57C-D)与PEG-化合物1组之间的F4/80+细胞数量和大小无显著差异。

[1234] 如图58B中所概述,在第9周至第15周处理的动物中,介质组(图57E-F)与PEG-化合

物1组(图57G-H)之间的F4/80+细胞数量和大小无显著差异。

[1235] 油红染色切片的代表性显微照片示于图59A-H中。

[1236] 在第9周至第12周处理的动物中,来自介质组的油红染色肝脏切片表现出肝细胞中的小泡及大泡脂肪沉积(图59A-B)。如图60A中所概述的,与介质组相比,PEG-化合物1组的脂肪沉积区域(油红阳性区域)的百分比显著降低(图59C-D)($p<0.001$)。

[1237] 如图60B中所概述的,在第9周至第15周处理的动物中,与介质组(图59G-H)相比,PEG-化合物1组(图59E-F)的脂肪沉积区域百分比显著降低。

[1238] 图22.组织学发现概述

[1239]

参数(均值±SD)	12周介质(n=6)	12周PEG-化合物1(n=6)
肝纤维化区域(%)	1.17±0.33	0.97±0.51
炎症区域(%)	3.38±0.70	3.47±1.40
脂肪沉积区域(%)	40.1±4.8	16.2±7.9
肾纤维化区域(%)	1.70±0.49	1.67±0.92
参数(介质±SD)	15周介质(n=6)	15周PEG-化合物1(n=14)
肝纤维化区域(%)	2.18±0.14	1.44±0.53
炎症区域(%)	3.983±1.966	4.511±1.597
脂肪沉积区域(%)	32.0±9.6	12.5±10.1
肾纤维化区域(%)	1.58±0.41	1.77±0.69

[1240] 如上文所指出,如测量肝甘油三酯含量的生物化学测定和用苏木素及伊红或油红O染色肝脏切片后的组织学分析所评估的,PEG-化合物1降低肝脂肪积聚。文献中已报导天然FGF21的这种抗脂肪肝活性依赖于小鼠中的脂联素而定(参见Lin等,Cell Metab.17:779-789(2013);Holland等,Cell Metab 17:790-797(2013),其各自通过提述以其整体并入本文)。因此,在制备自经处理小鼠的末端血清样品中测量总脂联素的浓度。遵循制造商的方案使用市售ELISA试剂盒(Alpco目录号47-ADPMS-E01)测量血清脂联素。

[1241] 在所有所测试末端时间点,与对应介质组相比,每周两次施用3mg/kg PEG-化合物1统计学显著地增加血清总脂联素(图62)。此结果与Stelic NASH模型中脂联素有助于PEG-化合物1的功效的假设一致。

[1242] 总之,用PEG-化合物1处理三周显著降低了肝-体重比、肝脏脂质含量(甘油三酯和胆固醇)、脂肪沉积区域和NAS。除这些效果外,用PEG-化合物1处理6周还显著降低全血葡萄糖、血浆ALT和纤维化区域。此外,与介质组相比,PEG-化合物1处理改善了存活率。

[1243] 总之,PEG-化合物1显示了抗NASH及抗纤维化效果,包括改善的脂质和葡萄糖代谢。

[1244] 实施例17

[1245] 聚乙二醇化的化合物2在稳定表达β-Klotho的人胚肾细胞中的体外特征。

[1246] FGF21利用β-klotho以及FGF受体作为共同受体用于其组织特异性信号传输活性(参见例如Kurosu等,2007,J.Biol.Chem.282:26687-26695;Ogawa等,2007,Proc.Natl.Acad.of Sci.,USA 104:7432-7437,其各自通过提述以其整体并入本文)。FGF21首先结合至β-klotho且复合物可随后活化FGF受体以起始细胞内信号级联,其在几分钟的过程中快速活化胞外信号调节的激酶1/2(ERK1/2)。在更长的时间,活化的磷酸化ERK

(pERK)可转送至细胞核并磷酸化和活化多种转录调节因子,包括称为E二十六(ETS)样蛋白1(Elk1)的三元复合因子。活化Elk1与结合至某些DNA序列的血清反应因子形成复合物以调节某些基因的表达。

[1247] 稳定共表达人β-klotho的细胞系和Elk1-荧光素酶反式报告基因构建体的产生

[1248] Elk1-荧光素酶反式报告基因细胞系利用Agilent Technologies'PathDetect Elk1反式报告基因系统由HEK293细胞产生。该系统具有表达来自酵母转录激活因子蛋白Gal4的DNA结合域的融合蛋白的反式激活因子融合质粒,然后是Elk1的激活域。当转录激活因子Elk1在通过FGF21刺激时通过胞外信号调节的激酶(ERK)磷酸化并活化时,融合活化剂蛋白以二聚体形式结合至GAL4上游激活序列并激活荧光素酶报告酶的转录。来自报告质粒的荧光素酶表达说明融合反式激活因子蛋白的活化,且因此存在内源性蛋白激酶。相应地,荧光素酶活性反映活化细胞中ERK和对应信号转导通路的激活,在此情况下激活Elk1。

[1249] HEK293细胞与融合反式激活子质粒、报告体质粒和编码人β-klotho的质粒共转染。转染的细胞经G-418(500μg/ml)和杀稻瘟菌素(10μg/ml)进行选择。通过用FGF21构建体刺激并按照Elk1-荧光素酶活性来分析双重抗生素选择后存活的克隆。选择HEK Luc克隆2作为将来所有测定的细胞系。

[1250] 基于细胞的Elk1-荧光素酶分析

[1251] 将HEK293Luc克隆2细胞以每孔25,000个细胞的密度接种于96孔平板中。在组织培养恒温箱中于37℃和5%CO_2温育平板两天。在测定当天,用补充有1×L-谷氨酰胺、10mM Hepes,pH 7.2-7.5和10%FBS的无酚红DMEM培养基制备3倍连续稀释的FGF21蛋白。去除旧的细胞培养生长培养基。为起始治疗,将50μl具有测试化合物的无酚红DMEM培养基添加至各孔中并将平板放置回细胞培养物培养箱中。在5小时温育结束时,向各孔中添加等体积荧光素酶底物试剂混合物。将平板覆盖并置于600rpm的定轨振荡器中3min。经Perkin Elmer's Envision 2103多重平板读取器测量发光。

[1252] 数据分析

[1253] 用GraphPad Prism 5软件(GraphPad Software Inc.,CA)使用非线性回归分析来分析所有个体重复数据点的原始数据。使用具有4个参数的对数(激动剂)对响应等式拟合数据:底部(最小值)、顶部(最大值)、log EC50(效力的量度)及可变Hill斜率。效力(EC50)定义为响应中产生高于基线的半最大增加的浓度且通过曲线拟合程序计算。

[1254] 结果

[1255] 三种FGF21变体(N末端His标记的化合物1(His-化合物1)、PEG-化合物1和PEG-化合物2)的代表性浓度-响应曲线和5小时Elk1-荧光素酶测定中计算的效力和功效值示于图63和表23中。在5小时Elk1-荧光素酶测定中三种变体的效力是相似的(表23)。

[1256] 表23.5小时Elk1荧光素酶测定中FGF21变体的效力和功效

[1257]

化合物	效力		功效	
	pEC50[a] (log M)	EC50[b] (nM)	Emax[a] (RLU)	%对照[c]
His-化合物 1	8.99 ± 0.10	1.0 (0.8 - 1.3)	1.90E06 ± 3.9E05	100
PEG-化合物 1	8.44 ± 0.05[d]	3.6 (3.2 - 4.1)[d]	1.60E06 ± 3.7E05	84.5 ± 19.8
PEG-化合物 2	8.27 ± 0.16[d]	5.4 (3.7 - 8.0)[d]	1.66E06 ± 4.5E05	87.8 ± 23.9

[1258] [a]均值±S.D.

[1259] [b]几何均值(95％置信区间)

[1260] [c]对照定义为His-化合物1

[1261] [d]P<0.05,与His-化合物1相比,具有Tukey-Kramer事后检验的ANOVA。

[1262] 在基于细胞的Elk1-荧光素酶测定中比较了各种Fc-FGF-21融合分子。除化合物180和化合物175外的所有分子都表现出单数位nM效力或更低且与所测量的PEG-化合物2的效力相当或更低(图64和下表24)。

[1263] 表24.具有95％置信区间的几何均值EC50

[1264]

	化合物170	化合物171	化合物172	化合物173	化合物174	化合物175	化合物176	化合物177	化合物178	化合物化179	化合物180	化合物181	PEG·化合物2
几何均值(nM)	3.8	1.7	1.5	1.5	3.3	14.6	1.2	1.8	1.3	2.5	164.8	0.8	5.9
均值95％CI下限	2.8	1.0	0.6	1.2	1.3	6.1	1.0	1.4	1.0	1.2	92.9	0.6	4.9
均值的95％CI上限	5.2	2.9	3.6	1.7	8.4	34.8	1.5	2.4	1.6	5.0	291.7	1.1	7.1

[1265] 实施例18:FGF-21变体化合物对C57BL/6J小鼠中脂联素水平的影响

[1266] FGF21刺激从脂肪细胞分泌脂联素,并且脂联素受体的宽分布提供了可使FGF21效果延伸至其他组织的潜在途径。已报告小鼠中的天然FGF21的许多代谢效果(包括其抗脂肪肝活性)都需要脂联素(Lin,Z.等,Cell Metab.17:779-789(2013);Holland等,Cell Metab 17:790-797(2013),其各自通过提述以其整体并入本文)。本实施例报道了在正常非糖尿病C57BL/6J小鼠中单剂量增加的PEG-化合物2对FGF21活性的所选药效学标志物的影响。

[1267] 将8周龄雄性C57BL/6J小鼠随机分至以下处理组(样本量n＝10/组):1)介质;2)PEG-化合物2,0.03mg/kg;3)PEG-化合物2,0.1mg/kg;4)PEG-化合物2,0.3mg/kg;或5)PEG-化合物2,1.0mg/kg,和以5ml/kg皮下给药其各自处理。在非空腹状态下给药之后,将血液样品离心并将20μl血浆等分以定量确定总计和高分子量(HMW)脂联素(Alpco Diagnostics,Salem,NH,目录号47-ADPMS-E01)。小鼠在非空腹状态下在单次急性给药之后24、48、72和144小时再次抽血以进行血浆葡萄糖和脂联素分析,并在各次抽血之前测量体重。

[1268] 遵循用于小鼠总计和HMW ELISA试剂盒(Alpco Diagnostics,Salem,NH)的制造商的方案测量总计和高分子量(HMW)脂联素的血浆浓度。通过ELISA确定PEG-化合物2的血浆暴露。使用单因素ANOVA然后是Dunnett's t检验并用介质组作为对照(JMP来自SAS,Cary,NC)进行所有数据的统计学分析。统计学显著性确定为概率(P)<0.05。

[1269] 在基线(0)、处理后24、48、72和144小时确定体重。当转化为自基线(第0天)的体重百分比变化时,观察到响应于单次皮下给药PEG-化合物2的显著剂量依赖性降低(图65)。响应于1.0mg/kg剂量的PEG-化合物2,在给药后72小时体重减轻效果百分比最大且在第6天开始返回至基线值,与介质组中相比显著降低。与介质处理组相比,0.3mg/kg处理组在72小时(P<0.001)和1.0mg/kg处理组在48小时(P<0.05)、72小时(P<0.0001)和144小时(P<0.001)体重显著降低。

[1270] 在给药后72和144小时(图66A),相对于介质,通过用0.1、0.3和1.0mg/kg剂量的PEG-化合物2处理,血浆总脂联素浓度显著增加。与介质相比,0.03mg/kg剂量的所测试PEG-化合物2在任何测量点均不显著增加总脂联素效果。在0.1mg/kg处理组中,在72小时(P<0.001)和144小时(P<0.01),在0.3mg/kg处理组中在72小时(P<0.01)及144小时(P<0.01)和在1mg/kg处理组中在72小时(P<0.0001)和144小时(P<0.0001)血浆总脂联素显著增加。

[1271] 当表示为自基线的百分比变化时,与介质相比,通过用所有剂量的PEG-化合物2处

理在一些时间点处理使血浆总脂联素浓度显著增加(图66B)。与介质相比,用任何剂量的PEG-化合物2处理后24小时相对于基线总脂联素的百分比变化无显著差异,且与介质相比,在给药后72小时,所有剂量的PEG-化合物2均产生统计学显著的增加。给药1mg/kg PEG-化合物2后144小时,观察到的最大变化是自基线脂联素的变化增加75%。在0.03mg/kg处理组中,在72小时(P<0.01),在0.1mg/kg处理组中在48小时(P<0.01)、72小时(P<0.0001)和144小时(P<0.001),在0.3mg/kg处理组中在72小时(P<0.0001)和144小时(P<0.0001)和在1.0mg/kg处理组中在48小时(P<0.01)、72小时(P<0.0001)和144小时(P<0.0001)处的血浆总脂联素的百分比变化是显著增加的。

[1272] 与介质相比,通过用0.1和1.0mg/kg剂量的PEG-化合物2处理,血浆HMW脂联素浓度显著增加,而与介质相比,0.03和0.3mg/kg剂量的PEG-化合物2在任何测量点均不显著增加HMW脂联素(数据未示出)。

[1273] 在处理后144小时的研究结束处测量时,对于活性羧基(C)末端完整和总计(完整的和蛋白水解的)形式的分子,PEG-化合物2的血浆浓度以剂量依赖性方式增加,表25。

[1274] 表25.单次SC剂量后总计和C末端完整PEG-化合物2的血浆浓度

[1275]

PEG-化合物 2 的形式	剂量 (mg/kg)			
	0.03	0.1	0.3	1.0
总计(ng/ml)	1.5 ± 0.21	12 ± 0.89	39 ± 3.2	222 ± 15
C-末端完整的(ng/ml)	0.40 ± 0.11	5.2 ± 0.38	19 ± 1.4	135 ± 8.6

[1276] SC给药后144小时C57BL/6J小鼠血浆中的总计和C末端完整PEG-化合物2。

[1277] 所有值为均值±S.E.M。

[1278] 用9-11周龄C58BL/6J小鼠,以分子PEG-化合物20、化合物105、化合物112、化合物182、化合物171、化合物170、化合物181和PEG-化合物1遵循类似方案,但其中总脂联素改为仅在基线处、给药后3天(72小时)和6天(144小时)测量。除化合物181外,化合物在大肠杆菌中表达,该化合物181在HEK细胞中表达。与介质相比,在某些测试剂量处的所有化合物在第3天和/或第6天显著增加血浆总脂联素(参见图67A-E)。

[1279] 在0.3mg/kg和1mg/kg的剂量处,PEG-化合物2和PEG-化合物20在给药后6天各自导致血浆总脂联素显著增加(P<0.001,对于1mg/kg的任一化合物;P<0.01,对于0.3mg/kg PEG-化合物2;和P<0.05,对于0.3mg/kg PEG-化合物20)(图67A)。

[1280] 在54.3nmol/kg的剂量处,通过PEG-化合物2、化合物105和化合物112在第3和6天使得自基线的血浆总脂联素百分比变化显著增加(与培养基处理的对照相比)(P<0.001,对于所有数据点,PEG-化合物2除外,在第3天,P<0.05)(图67B)。另外,与介质处理的对照相比,5.43nmol/kg剂量的化合物112仅在第3天显著增加血浆总脂联素的百分比变化(P<0.05)(图67B)。

[1281] 通过在18.1nmol/kg(P<0.01,第3与6天)和54.3nmol/kg剂量(P<0.001和P<0.05,分别在第3和6天)的化合物182使得自基线的血浆总脂联素百分比变化显著增加(图67C)。5.43nmol/kg剂量的化合物182的血浆总脂联素的百分比变化的增加仅在第6天显著(P<0.05)。另外,PEG-化合物2(54.3nmol/kg剂量)在第3天和第6天显著增加血浆总脂联素的百分比变化(P<0.001,在该两天)(图67C)。

[1282] 与介质处理的对照相比,通过化合物171与化合物181二者,在第3天与第6天使得自基线的血浆总脂联素百分比变化以剂量依赖性方式显著增加(对于所有数据点P<0.001,只有对于5.43nmol/kg剂量的化合物181在第6天除外,其P<0.01)(图67D)。另外,PEG-化合物2(54.3nmol/kg剂量)在第3天与第6天显著增加血浆总脂联素的百分比变化(P<0.001,在该两天)(图67D)。

[1283] 在第3和6天通过18.1nmol/kg(P<0.01,该两天)和54.3nmol/kg(第3天P<0.05,和第6天P<0.001)的化合物170使得自基线的血浆总脂联素百分比变化显著增加;对于5.43nmol/kg剂量,血浆总脂联素的百分比变化的增加仅在第6天显著(P<0.05)(图67E)。另外,PEG-化合物2(54.3nmol/kg剂量)在第3天和第6天显著增加血浆总脂联素的百分比变化(P<0.001,在该两天)(图67E)。

[1284] 通过剂量为10mg/kg的化合物1在第3和6天使得自基线的血浆总脂联素百分比变化显著增加(P<0.001,在该两天)。另外,PEG-化合物2(1mg/kg)在第6天显著增加血浆总脂联素的百分比变化(P<0.001)(图67F)。

[1285] 实施例19:对db/db小鼠中糖尿病性肾病的影响

[1286] 单侧肾切除的(unix)db/db小鼠是糖尿病性肾脏疾病(DKD)的啮齿动物模型,其中手术去除一个肾脏会加重且加快由2型糖尿病造成的肾损伤和功能障碍(Ninichuk等,Eur J Med Res 12:351-355(2007),其通过提述以其整体并入本文)。

[1287] 4周研究

[1288] 在此研究中,8周龄的Db/db小鼠在用5%异氟醚麻醉下经历左肾切除以加速患上糖尿病性肾病。在单侧肾切除后三周,基于以尿白蛋白-肌酐比(uACR)、血糖和体重以该顺序随机分组,将14只单侧肾切除小鼠的组分布至PEG-化合物2或介质处理。db/m瘦小鼠组(n=12)指定为非糖尿病正常对照。在单侧肾切除db/db小鼠中在手术后三周开始用PEG-化合物2或介质处理。每周两次(BIW)通过皮下(SC)注射施用0.15mg/kg PEG-化合物2,其处于含有250mM蔗糖、20mM Tris,pH 8.3的介质中。在用5%异氟醚麻醉下经由眶后放血收集基线血液样品。在基线和处理2、3和4周之后从各小鼠获得用于测量尿液葡萄糖、白蛋白和肌酐的多个三小时点尿收集物。

[1289] 在处理四周之后在异氟醚麻醉下处死小鼠。除非另有说明,否则使用单因素方差分析(ANOVA),然后是Dunnett's检验进行数据的统计学分析(JMP统计学分析软件,SAS,Cary,NC)。统计学显著性确定为概率(P)<0.05。unix db/db介质组中的四只小鼠被排除在数据分析外(除食品及水消耗以外),因为其表现出严重肾盂肾炎。

[1290] PEG-化合物2和介质组表现出处理之前基线的类似血浆葡萄糖水平(765±42对比815±46,P>0.05)。在处理四周之后在研究结束时,PEG-化合物2组中的血浆葡萄糖低于介质组23%(485±39对比629±43,P<0.05)(参见表26)。

[1291] 表26.PEG-化合物1处理降低血液葡萄糖(mg/dL)[a]

[1292]

组	基线血液葡萄糖	末端血液葡萄糖
瘦	194.9±6.4	181.0±19.5
Unix db/db,介质	814.8±45.6[b]	628.6±39.0[b]
Unix db/db,PEG-化合物2	628.6±39.0[b]	485.2±42.5[c]

[1293] a.数据表示为均值±S.E.M。

[1294] b.P<0.05,疾病(unix db/db,介质,n=9)对比正常(db/m瘦,n=10)。

[1295] c.P<0.05,PEG-化合物2(n=14)对比介质(n=9)。

[1296] 在用PEG-化合物2处理开始之后,尿液葡萄糖水平逐渐降低。当与介质组相比时,PEG-化合物2组的尿液葡萄糖水平显示出在处理2、3和4周分别71%、73%及84%的显著降低(所有P<0.05;表5)。

[1297] 表27.PEG化合物2降低尿液葡萄糖(mg/dL)[a]

[1298]

组	2周给药	3周给药	4周给药
瘦	17±3	12±1	40±5
Unix db/db, 介质	8719±694[b]	8550±204[b]	9796±378[b]

[1299]

Unix db/db, PEG-化合物2	2537±818[c]	2284±715[c]	1565±410[c]
%降低	71%	73%	84%

[1300] a数据表示为均值±S.E.M。

[1301] b P<0.05,疾病(unix db/db,介质,n=9-10)对比正常(db/m瘦,n=10-12)。

[1302] c P<0.05,PEG-化合物2(n=13-14)对比介质(n=9-10)。

[1303] 文献中已报告了微量白蛋白尿(尿液白蛋白-肌酐比(uACR)>30μg/mg)是糖尿病性患者中最敏感性和特异性的早期肾病指标之一(参见Chae等,J Korean Med Sci.2012;27:784-787,其通过提述以其整体并入本文)。自3小时点尿收集物测量微量白蛋白并将值校正至尿液肌酐。在研究过程期间非糖尿病db/m瘦小鼠的平均uACR值范围为21至37μg/mg(图68和表28)。

[1304] 在研究期间,与非糖尿病性瘦db/m小鼠相比,unix db/db小鼠中的uACR由23显著增加至62倍(所有P<0.05)(图68和表28)。介质处理组的uACR自基线的838±159μg/mg至4周后的1341±284μg/mg(表28),这与进行性肾损伤一致。

[1305] 与介质组相比,PEG-化合物2处理的unix db/db小鼠分别对于处理2、3和4周显示出uACR值分别显著降低49%、53%和66%(所有P<0.05;图68)。在PEG-化合物2处理后的uACR值低于预处理基线处测量的那些(表28)。

[1306] 表28.PEG化合物2降低uACR(μg/mg)[a]

[1307]

组	基线	2周给药	3周给药	4周给药
瘦	36.7±2.6	26.3±4.3	21.4±2.7	30.1±2.8
Unix db/db,介质	838.2±159.4[b]	1060.2±256.9[b]	1319.9±282.3[b]	1341.3±283.5[b]
Unix db/db,PEG-化合物2	865.8±170.8	538.5±107.5[c]	616.1±145.2[c]	460.6±92.7[c]

[1308] 肾脏湿重反映了由于糖尿病中的超滤的肾肥大的状态。与非糖尿病性瘦小鼠相比,在unix db/db小鼠中平均肾脏重量显著较大,用介质处理的unix db/db小鼠的肾脏重量增加59%。用PEG-化合物2处理四周显著抑制糖尿病小鼠中的肾脏重量增加(286±6.3对比253±7.4,介质对比PEG-化合物2,P<0.05)。

[1309] 8周研究

[1310] 在8周龄时,db/db小鼠在氧气中在3%异氟醚下经历左肾切除以加速患上糖尿病性肾病。在单侧肾切除后三周,基于尿液白蛋白-肌酐比(uACR)、血糖和体重以该顺序,将14只单侧肾切除小鼠的组阻断(blocked)、随机分组并分布至0.15mg/kg或0.015mg/kg的PEG-化合物2或介质处理。db/m瘦小鼠组(n=11)指定为非糖尿病正常对照。在unix db/db小鼠

中,在手术后三周开始用0.15或0.015mg/kg的PEG-化合物2或介质每周两次皮下处理。在处理八周后在3%异氟醚下于氧气中然后是颈椎脱位术处死小鼠。将肾切除、解封装并称重。

[1311] 0.015mg/kg剂量组未显示任何显著的血糖降低或肾参数改善。与介质处理的小鼠相比,0.15mg/kg剂量的PEG-化合物2显著降低血液和尿液葡萄糖水平且将白蛋白尿降低~50%(所有P<0.05)。相对于瘦小鼠,单侧肾切除db/db小鼠的肾中一组炎症性和纤维化基因显著上调,且用0.15mg/kg的PEG-化合物2处理使这些基因的表达显著降低至瘦db/m对照小鼠中所见的水平。与瘦小鼠相比,在单侧肾切除db/db小鼠中平均肾脏湿重也显著更高,与介质相比,用0.15mg/kg的PEG-化合物2处理57天显著降低平均肾脏湿重。

[1312] 用苏木素和伊红染色来自肾脏的中间1/3的切片用于组织学分析。肾脏病损根据表29的注释中限定的标准进行分级。所有unix db/db小鼠表现出肾小球膜肾小球病变,其是此模型的预期表型(表29)。用0.15mg/kg而非0.015mg/kg的PEG-化合物2处理看起来降低肾小球膜肾小球病变的严重程度。少数unix db/db小鼠表现出继发于肾小球病变的小管-间质病损,其与该模型的潜在发病机制一致。

[1313] 这些观察结果证明在慢性2型糖尿病的情况下0.15mg/kg的PEG-化合物2是肾脏保护性的。

[1314] 表29.PEG-化合物2:肾脏病损的发生率和等级

[1315]

	治疗(mg/kg)	0(介质对照)	0.015	0.15
	小鼠编号	9	8	9
部位	等级			
肾小球[a]		9	8	9
	1	1	1	6
	2	5	2	3
	3	3	5	-
肾小管/间质[b]		3	3	4
	1	2	2	4
	2	1	1	-
骨盆[c]		2	1	2
	1	2	-	1
	2	-	1	1

[1316] a肾小球膜扩张是局部或弥散性的,且部分或总体的。2级是基于>50%的具有膜扩张的肾小球评估和/或至少1个肾小球中的额外肾小球膜、毛细管、上皮或荚膜病损;3级是基于这些额外肾小球病损的多于一项。

[1317] b小管病损包括膨胀、萎缩和/或增生;间质病损通常与肾小球病损相关且其特征为最小炎症或局部管周纤维化。1级为局部;2级为具有2至4个病灶的多灶性的。

[1318] c化脓性炎症;1级基于限于骨盆上皮的炎症;2级基于延伸至髓质或骨盆周围皮层。

[1319] 实施例20.对异丙肾上腺素灌注的Balb/C小鼠中的心脏肥大和心脏纤维化的影响

[1320] 异丙肾上腺素(Iso)灌注的Balb/c小鼠是心脏纤维化和肥大的啮齿动物模型。

[1321] 将10至12周的雄性Balb/c小鼠基于药物施用前的体重随机化。经由渗透微泵皮下

施用Iso或介质(于盐水中的0.02％抗坏血酸)3周。小鼠经3周的过程每周两次(BIW)同时给药0.5mg/kg PEG化合物2或培养基。然后使动物安乐死并在大血管处移出心脏并轻吸以去除心室中的任何血液,然后称重。自各组中的剩余24只小鼠,将整个心脏于干冰上冷冻并储存于≤-70℃以进行羟脯氨酸(HP)分析。

[1322] 使用总胶原测定试剂盒根据制造商的说明书(Quickzyme Biosciences, Netherlands)进行心脏HP含量(心脏纤维化终点)分析。

[1323] 在3周生命期结束时,测量整个心脏HP含量。与假拟物+介质组(9.96±0.38μg/mg)相比,在Iso+介质组(21.35±0.81μg/mg)中,经校正的HP含量增加114％(P<0.05)。这说明在Balb/c小鼠中响应于Iso输注形成心脏纤维化。接收Iso+PEG-化合物2(0.5mg/kg)的小鼠中的心脏HP含量(15.91±0.49μg/mg)显著低于Iso+介质动物中(图69和表30)。因此,当以预防性模式施用时,PEG-化合物2(0.5mg/kg)降低了心脏肥大和纤维化的程度。

[1324] 表30.用异丙肾上腺素和PEG-化合物2处理第3周的心脏HP含量.数据代表校准至蛋白的全心脏HP含量。所有值为均值±S.E.M.*:P<0.05,对比假拟物+介质,**:P<0.05,对比Iso+介质(单因素ANOVA,然后是Bonferroni's检验)。

[1325]

	假拟物+介质(n)	Iso+介质(n)	Iso+PEG-化合物2(n)
羟脯氨酸/蛋白(μg/mg)	9.96±0.38(20)	21.35±0.81(19)*	15.91±0.49(20)**

[1326] 进行介入研究以确定0.5mg/kg PEG-化合物2是否能在用PEG-FGF21变体处理3周开始前已经用Iso灌注1周的Balb/c小鼠中延缓进展或逆转之前形成的心脏肥大和纤维化。PEG-化合物2(0.5mg/kg)介入使得左心室(LV)质量降低24％(通过超声心动图评估的心脏肥大终点)。此观察与显著的14％体重减轻和23％脂联素循环水平升高相关。在Iso+介质与Iso+PEG-化合物2组之间在心脏纤维化(HP含量)或收缩心脏功能中未观察到显著差异(通过超声心动图测量)。

[1327] 实施例21:评估健康受试者中PEG-化合物2的安全性、耐受性、药代动力学及药效学的随机、安慰剂对照、单次和多次递增剂量研究

[1328] 该研究由三部分组成:A部分:单次递增剂量(SAD);B部分:多次递增剂量(MAD);和C部分:日本受试者中的多次递增剂量(J-MAD)。PEG-化合物2或安慰剂以盲法处理通过皮下注射施用。A部分中的受试者接受单剂的盲法处理且B和C部分中的受试者接受多剂的盲法处理。

[1329] 选择起始剂量为0.6mg的PEG-化合物2。还选择了SAD中60mg的最高剂量和对于MAD每周给药60mg以探究预计有效的剂量范围上限。在SAD组中受试者可接受剂量为0.6mg、2mg、6mg、20mg、40mg或多至60mg的PEG-化合物2。在MAD组中,个体可接受2mg、6mg、20mg、40mg或60mg的每周剂量(QW或BIW)。

[1330] 可包括BMI为30-40(A和B部分)或20-35(C部分)的年龄21-55岁的健康男性和女性受试者。

[1331] 主要终点:

[1332] 目的(评估健康受试者中单次和多次皮下给药PEG-化合物2的安全性和耐受性)通过如下安全性终点来测量:AE、严重AE和特别关注事件(包括注射部位评估、导致中断的AE和死亡)的发生以及在研究药物的最后一次给药之后多至30天出现的临床实验室测试、生命体征测量、ECG、体检的显著异常。

[1333] 次要终点:

[1334] A部分:在单次给药处理当天和在单次给药之后多至4周清除时来源于C末端完整PEG-化合物2血清浓度对比时间数据的单次给药药代动力学参数(Cmax、Tmax、AUC(0-T)、AUC(INF)、T-HALF和CLT/F)。

[1335] B和C部分:在第一次给药和最后一次给药之后来源于PEG-化合物2血清浓度对比时间数据的多次剂量药代动力学参数(Cmax、Tmax、AUC(TAU)和积聚指数(AI))。仅计算最后一次给药的T-HALF。在22天处理过程期间和最后一次给药之后至多4周的选择之日获得PEG-化合物2最低血清浓度(C最低处)。

[1336] 实施例22.NASH小鼠模型中PEG-化合物1、PEG-化合物2和化合物170的评估

[1337] 如上文实施例13中所述,在NASH的Stelic Institute的2命中模型中测试了三种FGF 21变体、PEG-化合物1、PEG-化合物2和化合物170。在40只雄性小鼠中通过在出生之后单次皮下注射200μg链脲霉素溶液2天和在4周龄之后饲喂高脂肪膳食(HFD;以千卡计57%脂肪)诱导NASH(“STAM小鼠”)。对于小鼠通过皮下途径每周两次从7至9周龄施用3mg/kg PEG-化合物1(n=8)、0.5mg/kg PEG-化合物2(n=8)、2.5mg/kg化合物170(n=8)或介质(20mM Tris/250mM蔗糖,pH 8.3)(n=8)。将这些小鼠在9周龄处死以进行各种分析。另一组八只小鼠充当基线对照并在7周龄时处死。

[1338] 使用市售的ELISA试剂盒(Alpco目录号47-ADPMS-E01)遵循制造商的方案测量制备自小鼠的最终血清样品中的总计和高分子量(HMW)脂联素浓度浓度。与介质组相比,所有3种FGF21变体都显著增加血清总脂联素(图70A)($p<0.0001$,对于PEG-化合物1、PEG-化合物2和化合物170)、血清HMW脂联素(图70B)($p<0.005$,PEG-化合物1;和$p<0.0001$,PEG-化合物2和化合物170)及HMW/总脂联素的比率(图70C)($p<0.05$,PEG-化合物1;和$p<0.01$,PEG-化合物2和化合物170)。

[1339] 确定体重、肝脏重量、肝脏甘油三酯、肝脏胆固醇和血浆葡萄糖、甘油三酯及ALT水平。所有三种FGF21变体均显著降低的体重(图72A)、肝脏重量(图72B)、肝-体重比(图72C)、肝脏甘油三酯(图72D)和血浆ALT(图72E)。PEG-化合物2和化合物170显著降低肝脏胆固醇(图72F),且PEG-化合物2显著降低血浆甘油三酯(图72G)。在此研究中没有化合物显著降低血浆胆固醇或葡萄糖(数据未示出)。

[1340] 实施例23.在ob/ob小鼠中3周BIW给药期间的PEG-化合物2和化合物170的评估

[1341] 在21天重复给药研究中评估聚乙二醇化的化合物2和化合物170。结果指示与介质相比两种化合物均导致肝脏重量降低和肝脏左外叶中肝细胞脂肪变性的剂量依赖性降低。

[1342] 如实施例12中所述将8周龄的雄性ob/ob小鼠(Jackson Laboratories,Bar Harbor,ME)随机分成5组。对小鼠如下每周两次(BIW)皮下施用介质、聚乙二醇化的化合物2和化合物170(n=12,对于各组):1)介质(250mM蔗糖/20mM Tris,pH 8.3);2)聚乙二醇化的化合物2,8.14nmol/kg(0.15mg/kg);3)化合物170,8.14nmol/kg;4)聚乙二醇化的化合物2,81.45nmol/kg(1.5mg/kg);和5)化合物170,81.45nmol/kg。确定饲喂状态下整个21天给药时期中的体重、血浆葡萄糖、甘油三酯、胰岛素、非酯化脂肪酸(NEFA)、β-OH-丁酸盐、总脂联素和高分子量(HMW)脂联素。在研究开始和终止时确定全血中的糖化血红蛋白(HbA1c)。在研究终止时确定肝脏重量及肝脏甘油三酯。对肝脏左外叶进行肝脏组织学分析以评估肝细胞脂肪变性。用10%缓冲福尔马林固定组织且进行处理以用于组织学分析。使用标准方法

用苏木素和伊红染色石蜡包埋的组织切片。评估各处理组中的前6只小鼠(总计＝30只小鼠)。肝细胞脂肪变性(小泡和大泡脂肪变化)主要限于对照小鼠中的II/III区;此脂肪变性程度任意属于2级(评分)。以盲法方式对其他样品分级(0级属于观察到的脂肪变性程度最低)。此外,在用PEG-化合物2或化合物170而非介质处理的小鼠中观察到载有脂质的窦周细胞,大概为星形(Ito)的细胞,在介质处理的小鼠中Ito细胞通过肝细胞脂肪变性掩蔽。以盲法方式评估Ito细胞的丰度(而不计数),并将各样品任意分级以提供半定量评估(评分3指示最高丰度)。

[1343] 两种剂量的两种化合物将饲喂的葡萄糖显著降低至血糖量正常水平(数据未示出),且显著降低血浆胰岛素和HbA1c(数据未示出)。第8天至第21天观察到以剂量相关性趋势相对于介质的高分子量(HMW)脂联素显著增加,而血浆总脂联素显示一些小的、但相对于介质的不一致的增加(数据未示出)。相对于介质(数据未示出)用两种化合物(尤其高剂量)增加的血浆NEFA和β-OH-丁酸酯两者,指示脂肪酸氧化增加。在所有处理组中在21天观察到绝对肝脏重量与针对体重校正的肝脏重量显著降低(图71A和71B)。具体地,在所有四个用FGF-21变体处理的组中,相对于介质对照绝对肝脏重量显著降低($p<0.0001$),且相对于降低剂量的化合物,较高剂量的PEG-化合物2显著降低绝对肝脏重量($p<0.05$)(图71A)。另外,在所有四个用FGF-21变体处理的组中,相对于介质对照肝脏重量与体重的比率显著降低($p<0.0001$)(图71B)。与介质相比,在用PEG-化合物2或化合物170处理的小鼠中观察到肝细胞脂肪变性的严重程度的剂量依赖性降低(表31)。在来自PEG-化合物2和化合物170处理的小鼠的切片中观察到载有脂质的窦周细胞(想必为Ito或肝星形细胞)(表32),但在来自介质处理的小鼠的切片中因来自肝细胞脂肪变性的干扰而不可观测到。在来自用PEG-化合物2或化合物170处理的小鼠的切片中观察到Ito细胞突出的严重程度的剂量依赖性降低。

[1344] 表31.ob/ob小鼠中的肝细胞脂肪变性(脂肪变化)发生率和组织学评分

[1345]

		介质	PEG-化合物2 (8.14 nmol/kg)	化合物170 (8.14 nmol/kg)	PEG-化合物2 (81.45 nmol/kg)	化合物170 (81.45 nmol/kg
评分	No.	6	6	6	6	6
0		-	-	1	6	6
1		-	6	5	-	-
2		6	-	-	-	-

[1346] 表32.ob/ob小鼠中的窦周载有脂质的细胞发生率和组织学评分

[1347]

		介质	PEG-化合物2 (8.14 nmol/kg)	化合物170 (8.14 nmol/kg)	PEG-化合物2 (81.45 nmol/kg)	化合物170 (81.45 nmol/kg
评分	No.	6	6	6	6	6
0		ND	-	-	1	-
1		ND	-	1	4	1
2		ND	-	-	1	5
3		ND	6	5	-	-

[0001] 序列表

[0002] <110> 百时美施贵宝公司

[0003] <120> 修饰的FGF-21多肽及其用途

[0004] <130> 43270.2213

[0005] <141> 2015-10-23

[0006] <150> US 62/068,296

[0007] <151> 2014-10-24

[0008] <150> US 62/068,514

[0009] <151> 2014-10-24

[0010] <150> US 62/068,523

[0011] <151> 2014-10-24

[0012] <150> US 62/068,526

[0013] <151> 2014-10-24

[0014] <150> US 62/068,534

[0015] <151> 2014-10-24

[0016] <150> US 62/141,337

[0017] <151> 2015-04-01

[0018] <150> US 62/141,383

[0019] <151> 2015-04-01

[0020] <160> 487

[0021] <170> PatentIn version 3.5

[0022] <210> 1

[0023] <211> 181

[0024] <212> PRT

[0025] <213> 人(Homo sapiens)

[0026] <400> 1

[0027] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

[0028] 1 5 10 15

[0029] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

[0030] 20 25 30

[0031] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

[0032] 35 40 45

[0033] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln

[0034] 50 55 60

[0035] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly

[0036] 65 70 75 80

[0037] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg

[0038] 85 90 95

[0039] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[0040] 100 105 110
[0041] Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
[0042] 115 120 125
[0043] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[0044] 130 135 140
[0045] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[0046] 145 150 155 160
[0047] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[0048] 165 170 175
[0049] Pro Ser Tyr Ala Ser
[0050] 180
[0051] <210> 2
[0052] <211> 191
[0053] <212> PRT
[0054] <213> 人(Homo sapiens)
[0055] <400> 2
[0056] Met His His His His His His Ser Gly Gly His Pro Ile Pro Asp Ser
[0057] 1 5 10 15
[0058] Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr
[0059] 20 25 30
[0060] Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp
[0061] 35 40 45
[0062] Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln
[0063] 50 55 60
[0064] Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr
[0065] 65 70 75 80
[0066] Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu
[0067] 85 90 95
[0068] His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp
[0069] 100 105 110
[0070] Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu
[0071] 115 120 125
[0072] Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala
[0073] 130 135 140
[0074] Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro
[0075] 145 150 155 160
[0076] Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu
[0077] 165 170 175

[0078] Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[0079] 180 185 190
[0080] <210> 3
[0081] <211> 209
[0082] <212> PRT
[0083] <213> 人(Homo sapiens)
[0084] <400> 3
[0085] Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
[0086] 1 5 10 15
[0087] Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
[0088] 20 25 30
[0089] Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
[0090] 35 40 45
[0091] Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
[0092] 50 55 60
[0093] Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
[0094] 65 70 75 80
[0095] Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
[0096] 85 90 95
[0097] Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
[0098] 100 105 110
[0099] Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
[0100] 115 120 125
[0101] Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
[0102] 130 135 140
[0103] His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
[0104] 145 150 155 160
[0105] Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
[0106] 165 170 175
[0107] Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
[0108] 180 185 190
[0109] Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
[0110] 195 200 205
[0111] Ser
[0112] <210> 4
[0113] <211> 208
[0114] <212> PRT
[0115] <213> 人(Homo sapiens)
[0116] <400> 4

[0117] Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
[0118] 1 5 10 15
[0119] Val Leu Ala Gly Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro Asp
[0120] 20 25 30
[0121] Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu
[0122] 35 40 45
[0123] Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu
[0124] 50 55 60
[0125] Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu
[0126] 65 70 75 80
[0127] Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys
[0128] 85 90 95
[0129] Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser
[0130] 100 105 110
[0131] Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu
[0132] 115 120 125
[0133] Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
[0134] 130 135 140
[0135] Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro
[0136] 145 150 155 160
[0137] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro
[0138] 165 170 175
[0139] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro
[0140] 180 185 190
[0141] Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[0142] 195 200 205
[0143] <210> 5
[0144] <211> 181
[0145] <212> PRT
[0146] <213> 人(Homo sapiens)
[0147] <400> 5
[0148] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[0149] 1 5 10 15
[0150] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[0151] 20 25 30
[0152] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[0153] 35 40 45
[0154] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[0155] 50 55 60

[0156] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[0157] 65 70 75 80
[0158] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[0159] 85 90 95
[0160] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[0161] 100 105 110
[0162] Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
[0163] 115 120 125
[0164] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[0165] 130 135 140
[0166] Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[0167] 145 150 155 160
[0168] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[0169] 165 170 175
[0170] Pro Ser Tyr Ala Ser
[0171] 180
[0172] <210> 6
[0173] <211> 209
[0174] <212> PRT
[0175] <213> 人(Homo sapiens)
[0176] <400> 6
[0177] Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
[0178] 1 5 10 15
[0179] Val Leu Ala Gly Leu Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro
[0180] 20 25 30
[0181] Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
[0182] 35 40 45
[0183] Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
[0184] 50 55 60
[0185] Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
[0186] 65 70 75 80
[0187] Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
[0188] 85 90 95
[0189] Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
[0190] 100 105 110
[0191] Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
[0192] 115 120 125
[0193] Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
[0194] 130 135 140

[0195] His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly
[0196] 145 150 155 160
[0197] Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu
[0198] 165 170 175
[0199] Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
[0200] 180 185 190
[0201] Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
[0202] 195 200 205
[0203] Ser
[0204] <210> 7
[0205] <211> 208
[0206] <212> PRT
[0207] <213> 人(Homo sapiens)
[0208] <400> 7
[0209] Met Asp Ser Asp Glu Thr Gly Phe Glu His Ser Gly Leu Trp Val Ser
[0210] 1 5 10 15
[0211] Val Leu Ala Gly Leu Leu Gly Ala Cys Gln Ala His Pro Ile Pro Asp
[0212] 20 25 30
[0213] Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu
[0214] 35 40 45
[0215] Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu
[0216] 50 55 60
[0217] Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu
[0218] 65 70 75 80
[0219] Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys
[0220] 85 90 95
[0221] Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser
[0222] 100 105 110
[0223] Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu
[0224] 115 120 125
[0225] Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
[0226] 130 135 140
[0227] Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro
[0228] 145 150 155 160
[0229] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro
[0230] 165 170 175
[0231] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro
[0232] 180 185 190
[0233] Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[0234] 195 200 205

[0235] <210> 8

[0236] <211> 546

[0237] <212> DNA

[0238] <213> 人(Homo sapiens)

[0239] <400> 8

[0240] caccccatcc ctgactccag tcctctcctg caattcgggg gccaagtccg gcagcggtac 60

[0241] ctctacacag atgatgccca gcagacagaa gcccacctgg agatcaggga ggatgggacg 120

[0242] gtgggggcg ctgctgacca gagccccgaa agtctcctgc agctgaaagc cttgaagccg 180

[0243] ggagttattc aaatcttggg agtcaagaca tccaggttcc tgtgccagcg gccagatggg 240

[0244] gccctgtatg gatcgctcca ctttgaccct gaggcctgca gcttccggga gctgcttctt 300

[0245] gaggacggat acaatgttta ccagtccgaa gcccacggcc tcccgctgca cctgccaggg 360

[0246] aacaagtccc cacaccggga ccctgcaccc cgaggaccag ctcgcttcct gccactacca 420

[0247] ggcctgcccc ccgcaccccc ggagccaccc ggaatcctgg ccccccagcc ccccgatgtg 480

[0248] ggctcctcgg accctctgag catggtggga ccttcccagg gccgaagccc cagctacgct 540

[0249] tcctga 546

[0250] <210> 9

[0251] <211> 576

[0252] <212> DNA

[0253] <213> 人(Homo sapiens)

[0254] <400> 9

[0255] atgcatcatc atcatcatca tagcggcggc caccccatcc ctgactccag tcctctcctg 60

[0256] caattcgggg gccaagtccg gcagcggtac ctctacacag atgatgccca gcagacagaa 120

[0257] gcccacctgg agatcaggga ggatgggacg gtgggggcg ctgctgacca gagccccgaa 180

[0258] agtctcctgc agctgaaagc cttgaagccg ggagttattc aaatcttggg agtcaagaca 240

[0259] tccaggttcc tgtgccagcg gccagatggg gccctgtatg gatcgctcca ctttgaccct 300

[0260] gaggcctgca gcttccggga gctgcttctt gaggacggat acaatgttta ccagtccgaa 360

[0261] gcccacggcc tcccgctgca cctgccaggg aacaagtccc cacaccggga ccctgcaccc 420

[0262] cgaggaccag ctcgcttcct gccactacca ggcctgcccc ccgcaccccc ggagccaccc 480

[0263] ggaatcctgg ccccccagcc ccccgatgtg ggctcctcgg accctctgag catggtggga 540

[0264] ccttcccagg gccgaagccc cagctacgct tcctga 576

[0265] <210> 10

[0266] <211> 630

[0267] <212> DNA

[0268] <213> 人(Homo sapiens)

[0269] <400> 10

[0270] atggactcgg acgagaccgg gttcgagcac tcaggactgt gggtttctgt gctggctggt 60

[0271] cttctgctgg gagcctgcca ggcacacccc atccctgact ccagtcctct cctgcaattc 120

[0272] gggggccaag tccggcagcg gtacctctac acagatgatg cccagcagac agaagcccac 180

[0273] ctggagatca gggaggatgg gacggtgggg ggcgctgctg accagagccc cgaaagtctc 240

[0274] ctgcagctga aagccttgaa gccgggagtt attcaaatct tgggagtcaa gacatccagg 300

[0275] ttcctgtgcc agcggccaga tggggccctg tatggatcgc tccactttga ccctgaggcc 360

[0276] tgcagcttcc gggagctgct tcttgaggac ggatacaatg tttaccagtc cgaagcccac 420

[0277] ggcctcccgc tgcacctgcc agggaacaag tccccacacc gggaccctgc accccgagga 480

[0278] ccagctcgct tcctgccact accaggcctg ccccccgcac ccccggagcc acccggaatc 540

[0279] ctggcccccc agccccccga tgtgggctcc tcggaccctc tgagcatggt gggaccttcc 600

[0280] cagggccgaa gccccagcta cgcttcctga 630

[0281] <210> 11

[0282] <211> 627

[0283] <212> DNA

[0284] <213> 人(Homo sapiens)

[0285] <400> 11

[0286] atggactcgg acgagaccgg gttcgagcac tcaggactgt gggtttctgt gctggctggt 60

[0287] cttctgggag cctgccaggc acaccccatc cctgactcca gtcctctcct gcaattcggg 120

[0288] ggccaagtcc ggcagcggta cctctacaca gatgatgccc agcagacaga agcccacctg 180

[0289] gagatcaggg aggatgggac ggtgggggggc gctgctgacc agagccccga aagtctcctg 240

[0290] cagctgaaag ccttgaagcc gggagttatt caaatcttgg gagtcaagac atccaggttc 300

[0291] ctgtgccagc ggccagatgg ggccctgtat ggatcgctcc actttgaccc tgaggcctgc 360

[0292] agcttccggg agctgcttct tgaggacgga tacaatgttt accagtccga agcccacggc 420

[0293] ctcccgctgc acctgccagg gaacaagtcc ccacaccggg accctgcacc ccgaggacca 480

[0294] gctcgcttcc tgccactacc aggcctgccc cccgcacccc cggagccacc cggaatcctg 540

[0295] gccccccagc cccccgatgt gggctcctcg gaccctctga gcatggtggg accttcccag 600

[0296] ggccgaagcc ccagctacgc ttcctga 627

[0297] <210> 12

[0298] <211> 545

[0299] <212> DNA

[0300] <213> 人(Homo sapiens)

[0301] <400> 12

[0302] caccccatcc ctgactccag tcctctcctg caattcgggg gccaagtccg gcagcggtac 60

[0303] ctctacacag atgatgccca gcagacagaa gcccacctgg agatcaggga ggatgggacg 120

[0304] gtgggggggcg ctgctgacca gagccccgaa agtctcctgc agctgaaagc cttgaagccg 180

[0305] ggagttattc aaatcttggg agtcaagaca tccaggttcc tgtgccagcg gccagatggg 240

[0306] gccctgtatg gatcgctcca ctttgaccct gaggcctgca gcttccggga gctgcttctt 300

[0307] gaggacggat acaatgttta ccagtccgaa gcccacggcc tcccgctgca cctgccaggg 360

[0308] aacaagtccc cacaccggga ccctgcaccc cgaggaccag ctcgcttcct gccactacca 420

[0309] ggcctgcccc ccgcactccc ggagccaccc ggaatcctgg cccccccagcc ccccgatgtg 480

[0310] ggctcctcgg accctctgag catggtggga ccttcccagg gccgaagccc agctacgctt 540

[0311] cctga 545

[0312] <210> 13

[0313] <211> 630

[0314] <212> DNA

[0315] <213> 人(Homo sapiens)

[0316] <400> 13

[0317] atggactcgg acgagaccgg gttcgagcac tcaggactgt gggtttctgt gctggctggt 60

[0318] cttctgctgg gagcctgcca ggcacacccc atccctgact ccagtcctct cctgcaattc 120

[0319] gggggccaag tccggcagcg gtacctctac acagatgatg cccagcagac agaagcccac 180

[0320] ctggagatca gggaggatgg gacggtgggg ggcgctgctg accagagccc cgaaagtctc 240

[0321] ctgcagctga aagccttgaa gccgggagtt attcaaatct tgggagtcaa gacatccagg 300

[0322] ttcctgtgcc agcggccaga tggggccctg tatggatcgc tccactttga ccctgaggcc 360

[0323] tgcagcttcc gggagctgct tcttgaggac ggatacaatg tttaccagtc cgaagcccac 420

[0324] ggcctcccgc tgcacctgcc agggaacaag tccccacacc gggaccctgc accccgagga 480

[0325] ccagctcgct tcctgccact accaggcctg ccccccgcac tcccggagcc acccggaatc 540

[0326] ctggcccccc agccccccga tgtgggctcc tcggaccctc tgagcatggt gggaccttcc 600

[0327] cagggccgaa gccccagcta cgcttcctga 630

[0328] <210> 14

[0329] <211> 627

[0330] <212> DNA

[0331] <213> 人(Homo sapiens)

[0332] <400> 14

[0333] atggactcgg acgagaccgg gttcgagcac tcaggactgt gggtttctgt gctggctggt 60

[0334] cttctgggag cctgccaggc acaccccatc cctgactcca gtcctctcct gcaattcggg 120

[0335] ggccaagtcc ggcagcggta cctctacaca gatgatgccc agcagacaga agcccacctg 180

[0336] gagatcaggg aggatgggac ggtgggggggc gctgctgacc agagccccga aagtctcctg 240

[0337] cagctgaaag ccttgaagcc gggagttatt caaatcttgg gagtcaagac atccaggttc 300

[0338] ctgtgccagc ggccagatgg ggccctgtat ggatcgctcc actttgaccc tgaggcctgc 360

[0339] agcttccggg agctgcttct tgaggacgga tacaatgttt accagtccga agcccacggc 420

[0340] ctcccgctgc acctgccagg gaacaagtcc ccacaccggg accctgcacc ccgaggacca 480

[0341] gctcgcttcc tgccactacc aggcctgccc cccgcactcc cggagccacc cggaatcctg 540

[0342] gccccccagc cccccgatgt gggctcctcg gaccctctga gcatggtggg accttcccag 600

[0343] ggccgaagcc ccagctacgc ttcctga 627

[0344] <210> 15

[0345] <211> 77

[0346] <212> DNA

[0347] <213> 人工

[0348] <220>

[0349] <223> 衍生自詹氏甲烷球菌(Methanococcus jannaschii)tRNA的突变体 tRNA

[0350] <400> 15

[0351] ccggcggtag ttcagcaggg cagaacggcg gactctaaat ccgcatggcg ctggttcaaa 60

[0352] tccagcccgc cggacca 77

[0353] <210> 16

[0354] <211> 306

[0355] <212> PRT

[0356] <213> 人工

[0357] <220>

[0358] <223> 衍生自 詹氏甲烷球菌(Methanococcus jannaschii)合成酶的突变体合成酶

[0359] <400> 16

[0360] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0361] 1 5 10 15

[0362] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Val

[0363] 20 25 30

[0364] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[0365] 35 40 45

[0366] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[0367] 50 55 60

[0368] Tyr Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[0369] 65 70 75 80

[0370] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0371] 85 90 95

[0372] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Glu His Gly Leu Asp Lys

[0373] 100 105 110

[0374] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0375] 115 120 125

[0376] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0377] 130 135 140

[0378] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Gly Ile His

[0379] 145 150 155 160

[0380] Tyr Glu Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile

[0381] 165 170 175

[0382] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His

[0383] 180 185 190

[0384] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser

[0385] 195 200 205

[0386] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala

[0387] 210 215 220

[0388] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro

[0389] 225 230 235 240

[0390] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys

[0391] 245 250 255

[0392] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu

[0393] 260 265 270

[0394] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys

[0395] 275 280 285

[0396] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys

[0397] 290 295 300

[0398] Arg Leu

[0399] 305

[0400] <210> 17

[0401] <211> 77

[0402] <212> DNA

[0403] <213> Methanococcus jannaschii

[0404] <400> 17

[0405] ccggcggtag ttcagcaggg cagaacggcg gactctaaat ccgcatggcg ctggttcaaa 60

[0406] tccggcccgc cggacca 77

[0407] <210> 18

[0408] <211> 88

[0409] <212> DNA

[0410] <213> 人工

[0411] <220>

[0412] <223> 优化的琥珀抑制子 tRNA

[0413] <400> 18

[0414] cccagggtag ccaagctcgg ccaacggcga cggactctaa atccgttctc gtaggagttc 60

[0415] gagggttcga atcccttccc tgggacca 88

[0416] <210> 19

[0417] <211> 89

[0418] <212> DNA

[0419] <213> 人工

[0420] <220>

[0421] <223> An optimized AGGA frameshift supressor tRNA

[0422] <400> 19

[0423] gcgagggtag ccaagctcgg ccaacggcga cggacttcct aatccgttct cgtaggagtt 60

[0424] cgagggttcg aatccctccc ctcgcacca 89

[0425] <210> 20

[0426] <211> 306

[0427] <212> PRT

[0428] <213> 人工

[0429] <220>

[0430] <223> 用于并入p-叠氮-L-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶

[0431] <400> 20

[0432] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0433] 1 5 10 15

[0434] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Gly

[0435] 20 25 30

[0436] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[0437] 35 40 45

[0438] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[0439] 50 55 60

[0440] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[0441] 65 70 75 80

[0442] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0443] 85 90 95

[0444] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Thr Phe Gln Leu Asp Lys

[0445] 100 105 110

[0446] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0447] 115 120 125

[0448] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0449] 130 135 140

[0450] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Thr Tyr Tyr

[0451] 145 150 155 160

[0452] Tyr Leu Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile

[0453] 165 170 175

[0454] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His

[0455] 180 185 190

[0456] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser

[0457] 195 200 205

[0458] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala

[0459] 210 215 220

[0460] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro

[0461] 225 230 235 240

[0462] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys

[0463] 245 250 255

[0464] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu

[0465] 260 265 270

[0466] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys

[0467] 275 280 285

[0468] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys

[0469] 290 295 300

[0470] Arg Leu

[0471] 305

[0472] <210> 21

[0473] <211> 306

[0474] <212> PRT

[0475] <213> 人工

[0476] <220>

[0477] <223> 用于并入p-苯甲酰-L-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶

[0478] <400> 21

[0479] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0480] 1 5 10 15

[0481] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Gly

[0482] 20 25 30

[0483] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[0484] 35 40 45

[0485] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[0486] 50 55 60

[0487] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[0488] 65 70 75 80

[0489] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0490] 85 90 95

[0491] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Ser Phe Gln Leu Asp Lys

[0492] 100 105 110

[0493] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0494] 115 120 125

[0495] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0496] 130 135 140

[0497] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Thr Ser His

[0498] 145 150 155 160

[0499] Tyr Leu Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile

[0500] 165 170 175

[0501] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His

[0502] 180 185 190

[0503] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser

[0504] 195 200 205

[0505] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala

[0506] 210 215 220

[0507] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro

[0508] 225 230 235 240

[0509] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys

[0510] 245 250 255

[0511] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu

[0512] 260 265 270

[0513] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys

[0514] 275 280 285

[0515] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys

[0516] 290 295 300

[0517] Arg Leu

[0518] 305

[0519] <210> 22

[0520] <211> 305

[0521] <212> PRT

[0522] <213> 人工

[0523] <220>

[0524] <223> 用于并入炔丙基-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶

[0525] <400> 22

[0526] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0527] 1 5 10 15

[0528] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Ala

[0529] 20 25 30

[0530] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[0531] 35 40 45

[0532] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[0533] 50 55 60

[0534] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[0535] 65 70 75 80

[0536] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0537] 85 90 95

[0538] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Pro Phe Gln Leu Asp Lys

[0539] 100 105 110

[0540] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0541] 115 120 125

[0542] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0543] 130 135 140

[0544] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Ala Ile Tyr

[0545] 145 150 155 160
[0546] Leu Ala Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile His
[0547] 165 170 175
[0548] Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His Asn
[0549] 180 185 190
[0550] Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser Lys
[0551] 195 200 205
[0552] Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys
[0553] 210 215 220
[0554] Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro Ile
[0555] 225 230 235 240
[0556] Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys Arg
[0557] 245 250 255
[0558] Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu Leu
[0559] 260 265 270
[0560] Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys Asn
[0561] 275 280 285
[0562] Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys Arg
[0563] 290 295 300
[0564] Leu
[0565] 305
[0566] <210> 23
[0567] <211> 305
[0568] <212> PRT
[0569] <213> 人工
[0570] <220>
[0571] <223> 用于并入炔丙基-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶
[0572] <400> 23
[0573] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser
[0574] 1 5 10 15
[0575] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Ala
[0576] 20 25 30
[0577] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln
[0578] 35 40 45
[0579] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile
[0580] 50 55 60
[0581] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp
[0582] 65 70 75 80
[0583] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0584] 85 90 95

[0585] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Pro Phe Gln Leu Asp Lys

[0586] 100 105 110

[0587] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0588] 115 120 125

[0589] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0590] 130 135 140

[0591] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Ile Pro Tyr

[0592] 145 150 155 160

[0593] Leu Pro Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile His

[0594] 165 170 175

[0595] Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His Asn

[0596] 180 185 190

[0597] Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser Lys

[0598] 195 200 205

[0599] Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys

[0600] 210 215 220

[0601] Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro Ile

[0602] 225 230 235 240

[0603] Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys Arg

[0604] 245 250 255

[0605] Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu Leu

[0606] 260 265 270

[0607] Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys Asn

[0608] 275 280 285

[0609] Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys Arg

[0610] 290 295 300

[0611] Leu

[0612] 305

[0613] <210> 24

[0614] <211> 305

[0615] <212> PRT

[0616] <213> 人工

[0617] <220>

[0618] <223> 用于并入炔丙基-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶

[0619] <400> 24

[0620] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0621] 1 5 10 15

[0622] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Ala

[0623] 20 25 30

[0624] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[0625] 35 40 45

[0626] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[0627] 50 55 60

[0628] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[0629] 65 70 75 80

[0630] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0631] 85 90 95

[0632] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Lys Phe Gln Leu Asp Lys

[0633] 100 105 110

[0634] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0635] 115 120 125

[0636] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0637] 130 135 140

[0638] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Ala Ile Tyr

[0639] 145 150 155 160

[0640] Leu Ala Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile His

[0641] 165 170 175

[0642] Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His Asn

[0643] 180 185 190

[0644] Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser Lys

[0645] 195 200 205

[0646] Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala Lys

[0647] 210 215 220

[0648] Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro Ile

[0649] 225 230 235 240

[0650] Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys Arg

[0651] 245 250 255

[0652] Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu Leu

[0653] 260 265 270

[0654] Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys Asn

[0655] 275 280 285

[0656] Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys Arg

[0657] 290 295 300

[0658] Leu

[0659] 305

[0660] <210> 25

[0661] <211> 306

[0662] <212> PRT

[0663] <213> 人工

[0664] <220>

[0665] <223> 用于并入p-叠氮-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶

[0666] <400> 25

[0667] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0668] 1 5 10 15

[0669] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Thr

[0670] 20 25 30

[0671] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[0672] 35 40 45

[0673] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[0674] 50 55 60

[0675] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[0676] 65 70 75 80

[0677] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0678] 85 90 95

[0679] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Asn Phe Gln Leu Asp Lys

[0680] 100 105 110

[0681] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0682] 115 120 125

[0683] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0684] 130 135 140

[0685] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Pro Leu His

[0686] 145 150 155 160

[0687] Tyr Gln Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile

[0688] 165 170 175

[0689] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His

[0690] 180 185 190

[0691] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser

[0692] 195 200 205

[0693] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala

[0694] 210 215 220

[0695] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro

[0696] 225 230 235 240

[0697] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys

[0698] 245 250 255

[0699] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu

[0700] 260 265 270

[0701] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys
[0702] 275 280 285
[0703] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys
[0704] 290 295 300
[0705] Arg Leu
[0706] 305
[0707] <210> 26
[0708] <211> 306
[0709] <212> PRT
[0710] <213> 人工
[0711] <220>
[0712] <223> 用于并入p-叠氮-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶
[0713] <400> 26
[0714] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser
[0715] 1 5 10 15
[0716] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Thr
[0717] 20 25 30
[0718] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln
[0719] 35 40 45
[0720] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile
[0721] 50 55 60
[0722] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp
[0723] 65 70 75 80
[0724] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met
[0725] 85 90 95
[0726] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Ser Phe Gln Leu Asp Lys
[0727] 100 105 110
[0728] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys
[0729] 115 120 125
[0730] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro
[0731] 130 135 140
[0732] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Pro Leu His
[0733] 145 150 155 160
[0734] Tyr Gln Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile
[0735] 165 170 175
[0736] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His
[0737] 180 185 190
[0738] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser
[0739] 195 200 205

[0740] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala
[0741] 210 215 220
[0742] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro
[0743] 225 230 235 240
[0744] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys
[0745] 245 250 255
[0746] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu
[0747] 260 265 270
[0748] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys
[0749] 275 280 285
[0750] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys
[0751] 290 295 300
[0752] Arg Leu
[0753] 305
[0754] <210> 27
[0755] <211> 306
[0756] <212> PRT
[0757] <213> 人工
[0758] <220>
[0759] <223> 用于并入p-叠氮-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶
[0760] <400> 27
[0761] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser
[0762] 1 5 10 15
[0763] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Leu
[0764] 20 25 30
[0765] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln
[0766] 35 40 45
[0767] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile
[0768] 50 55 60
[0769] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp
[0770] 65 70 75 80
[0771] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met
[0772] 85 90 95
[0773] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Thr Phe Gln Leu Asp Lys
[0774] 100 105 110
[0775] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys
[0776] 115 120 125
[0777] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro
[0778] 130 135 140

[0779] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Pro Val His
[0780] 145 150 155 160
[0781] Tyr Gln Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile
[0782] 165 170 175
[0783] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His
[0784] 180 185 190
[0785] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser
[0786] 195 200 205
[0787] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala
[0788] 210 215 220
[0789] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro
[0790] 225 230 235 240
[0791] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys
[0792] 245 250 255
[0793] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu
[0794] 260 265 270
[0795] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys
[0796] 275 280 285
[0797] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys
[0798] 290 295 300
[0799] Arg Leu
[0800] 305
[0801] <210> 28
[0802] <211> 306
[0803] <212> PRT
[0804] <213> 人工
[0805] <220>
[0806] <223> 用于并入p-叠氮-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶
[0807] <400> 28
[0808] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser
[0809] 1 5 10 15
[0810] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Thr
[0811] 20 25 30
[0812] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln
[0813] 35 40 45
[0814] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile
[0815] 50 55 60
[0816] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp
[0817] 65 70 75 80

[0818] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met
[0819] 85 90 95
[0820] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Ser Phe Gln Leu Asp Lys
[0821] 100 105 110
[0822] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys
[0823] 115 120 125
[0824] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro
[0825] 130 135 140
[0826] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Pro Ser His
[0827] 145 150 155 160
[0828] Tyr Gln Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile
[0829] 165 170 175
[0830] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His
[0831] 180 185 190
[0832] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser
[0833] 195 200 205
[0834] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala
[0835] 210 215 220
[0836] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro
[0837] 225 230 235 240
[0838] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys
[0839] 245 250 255
[0840] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu
[0841] 260 265 270
[0842] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys
[0843] 275 280 285
[0844] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys
[0845] 290 295 300
[0846] Arg Leu
[0847] 305
[0848] <210> 29
[0849] <211> 306
[0850] <212> PRT
[0851] <213> 人工
[0852] <220>
[0853] <223> 用于并入p-乙酰基-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶
[0854] <400> 29
[0855] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser
[0856] 1 5 10 15

[0857] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Leu
[0858] 20 25 30
[0859] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln
[0860] 35 40 45
[0861] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile
[0862] 50 55 60
[0863] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp
[0864] 65 70 75 80
[0865] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met
[0866] 85 90 95
[0867] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Glu Phe Gln Leu Asp Lys
[0868] 100 105 110
[0869] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys
[0870] 115 120 125
[0871] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro
[0872] 130 135 140
[0873] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Gly Cys His
[0874] 145 150 155 160
[0875] Tyr Arg Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile
[0876] 165 170 175
[0877] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His
[0878] 180 185 190
[0879] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser
[0880] 195 200 205
[0881] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala
[0882] 210 215 220
[0883] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro
[0884] 225 230 235 240
[0885] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys
[0886] 245 250 255
[0887] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu
[0888] 260 265 270
[0889] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys
[0890] 275 280 285
[0891] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys
[0892] 290 295 300
[0893] Arg Leu
[0894] 305
[0895] <210> 30

[0896] <211> 306

[0897] <212> PRT

[0898] <213> 人工

[0899] <220>

[0900] <223> 用于并入p-乙酰基-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶

[0901] <400> 30

[0902] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0903] 1 5 10 15

[0904] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Leu

[0905] 20 25 30

[0906] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[0907] 35 40 45

[0908] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[0909] 50 55 60

[0910] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[0911] 65 70 75 80

[0912] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0913] 85 90 95

[0914] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Glu Phe Gln Leu Asp Lys

[0915] 100 105 110

[0916] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0917] 115 120 125

[0918] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0919] 130 135 140

[0920] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Gly Thr His

[0921] 145 150 155 160

[0922] Tyr Arg Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile

[0923] 165 170 175

[0924] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His

[0925] 180 185 190

[0926] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser

[0927] 195 200 205

[0928] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala

[0929] 210 215 220

[0930] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro

[0931] 225 230 235 240

[0932] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys

[0933] 245 250 255

[0934] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu

[0935] 260 265 270

[0936] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys

[0937] 275 280 285

[0938] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys

[0939] 290 295 300

[0940] Arg Leu

[0941] 305

[0942] <210> 31

[0943] <211> 306

[0944] <212> PRT

[0945] <213> 人工

[0946] <220>

[0947] <223> 用于并入p-乙酰基-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶

[0948] <400> 31

[0949] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0950] 1 5 10 15

[0951] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Ala

[0952] 20 25 30

[0953] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[0954] 35 40 45

[0955] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[0956] 50 55 60

[0957] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[0958] 65 70 75 80

[0959] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[0960] 85 90 95

[0961] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Glu Phe Gln Leu Asp Lys

[0962] 100 105 110

[0963] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[0964] 115 120 125

[0965] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[0966] 130 135 140

[0967] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Gly Gly His

[0968] 145 150 155 160

[0969] Tyr Leu Gly Val Asp Val Ile Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile

[0970] 165 170 175

[0971] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His

[0972] 180 185 190

[0973] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser

[0974] 195 200 205

[0975] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala

[0976] 210 215 220

[0977] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro

[0978] 225 230 235 240

[0979] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys

[0980] 245 250 255

[0981] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu

[0982] 260 265 270

[0983] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys

[0984] 275 280 285

[0985] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys

[0986] 290 295 300

[0987] Arg Leu

[0988] 305

[0989] <210> 32

[0990] <211> 306

[0991] <212> PRT

[0992] <213> 人工

[0993] <220>

[0994] <223> 用于并入p-叠氮-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶

[0995] <400> 32

[0996] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser

[0997] 1 5 10 15

[0998] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Ala

[0999] 20 25 30

[1000] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln

[1001] 35 40 45

[1002] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile

[1003] 50 55 60

[1004] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[1005] 65 70 75 80

[1006] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met

[1007] 85 90 95

[1008] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Arg Phe Gln Leu Asp Lys

[1009] 100 105 110

[1010] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys

[1011] 115 120 125

[1012] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro

[1013] 130 135 140
[1014] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Val Ile His
[1015] 145 150 155 160
[1016] Tyr Asp Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile
[1017] 165 170 175
[1018] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His
[1019] 180 185 190
[1020] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser
[1021] 195 200 205
[1022] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala
[1023] 210 215 220
[1024] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro
[1025] 225 230 235 240
[1026] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys
[1027] 245 250 255
[1028] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu
[1029] 260 265 270
[1030] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys
[1031] 275 280 285
[1032] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys
[1033] 290 295 300
[1034] Arg Leu
[1035] 305
[1036] <210> 33
[1037] <211> 306
[1038] <212> PRT
[1039] <213> 人工
[1040] <220>
[1041] <223> 用于并入p-叠氮-苯丙氨酸的氨基酰tRNA合成酶
[1042] <400> 33
[1043] Met Asp Glu Phe Glu Met Ile Lys Arg Asn Thr Ser Glu Ile Ile Ser
[1044] 1 5 10 15
[1045] Glu Glu Glu Leu Arg Glu Val Leu Lys Lys Asp Glu Lys Ser Ala Gly
[1046] 20 25 30
[1047] Ile Gly Phe Glu Pro Ser Gly Lys Ile His Leu Gly His Tyr Leu Gln
[1048] 35 40 45
[1049] Ile Lys Lys Met Ile Asp Leu Gln Asn Ala Gly Phe Asp Ile Ile Ile
[1050] 50 55 60
[1051] Leu Leu Ala Asp Leu His Ala Tyr Leu Asn Gln Lys Gly Glu Leu Asp

[1052] 65 70 75 80
[1053] Glu Ile Arg Lys Ile Gly Asp Tyr Asn Lys Lys Val Phe Glu Ala Met
[1054] 85 90 95
[1055] Gly Leu Lys Ala Lys Tyr Val Tyr Gly Ser Thr Phe Gln Leu Asp Lys
[1056] 100 105 110
[1057] Asp Tyr Thr Leu Asn Val Tyr Arg Leu Ala Leu Lys Thr Thr Leu Lys
[1058] 115 120 125
[1059] Arg Ala Arg Arg Ser Met Glu Leu Ile Ala Arg Glu Asp Glu Asn Pro
[1060] 130 135 140
[1061] Lys Val Ala Glu Val Ile Tyr Pro Ile Met Gln Val Asn Thr Tyr Tyr
[1062] 145 150 155 160
[1063] Tyr Leu Gly Val Asp Val Ala Val Gly Gly Met Glu Gln Arg Lys Ile
[1064] 165 170 175
[1065] His Met Leu Ala Arg Glu Leu Leu Pro Lys Lys Val Val Cys Ile His
[1066] 180 185 190
[1067] Asn Pro Val Leu Thr Gly Leu Asp Gly Glu Gly Lys Met Ser Ser Ser
[1068] 195 200 205
[1069] Lys Gly Asn Phe Ile Ala Val Asp Asp Ser Pro Glu Glu Ile Arg Ala
[1070] 210 215 220
[1071] Lys Ile Lys Lys Ala Tyr Cys Pro Ala Gly Val Val Glu Gly Asn Pro
[1072] 225 230 235 240
[1073] Ile Met Glu Ile Ala Lys Tyr Phe Leu Glu Tyr Pro Leu Thr Ile Lys
[1074] 245 250 255
[1075] Arg Pro Glu Lys Phe Gly Gly Asp Leu Thr Val Asn Ser Tyr Glu Glu
[1076] 260 265 270
[1077] Leu Glu Ser Leu Phe Lys Asn Lys Glu Leu His Pro Met Asp Leu Lys
[1078] 275 280 285
[1079] Asn Ala Val Ala Glu Glu Leu Ile Lys Ile Leu Glu Pro Ile Arg Lys
[1080] 290 295 300
[1081] Arg Leu
[1082] 305
[1083] <210> 34
[1084] <211> 208
[1085] <212> PRT
[1086] <213> 大鼠(Rattus norvegicus)
[1087] <400> 34
[1088] Met Asp Trp Met Lys Ser Arg Val Gly Ala Pro Gly Leu Trp Val Cys
[1089] 1 5 10 15
[1090] Leu Leu Leu Pro Val Phe Leu Leu Gly Val Cys Glu Ala Tyr Pro Ile

[1091] 20 25 30
[1092] Ser Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg
[1093] 35 40 45
[1094] Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Asp Gln Asp Thr Glu Ala His Leu Glu Ile
[1095] 50 55 60
[1096] Arg Glu Asp Gly Thr Val Val Gly Thr Ala His Arg Ser Pro Glu Ser
[1097] 65 70 75 80
[1098] Leu Leu Glu Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly
[1099] 85 90 95
[1100] Val Lys Ala Ser Arg Phe Leu Cys Gln Gln Pro Asp Gly Thr Leu Tyr
[1101] 100 105 110
[1102] Gly Ser Pro His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu
[1103] 115 120 125
[1104] Leu Lys Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro
[1105] 130 135 140
[1106] Leu Arg Leu Pro Gln Lys Asp Ser Gln Asp Pro Ala Thr Arg Gly Pro
[1107] 145 150 155 160
[1108] Val Arg Phe Leu Pro Met Pro Gly Leu Pro His Glu Pro Gln Glu Gln
[1109] 165 170 175
[1110] Pro Gly Val Leu Pro Pro Glu Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro
[1111] 180 185 190
[1112] Leu Ser Met Val Glu Pro Leu Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[1113] 195 200 205
[1114] <210> 35
[1115] <211> 210
[1116] <212> PRT
[1117] <213> 小鼠(Mus musculus)
[1118] <400> 35
[1119] Met Glu Trp Met Arg Ser Arg Val Gly Thr Leu Gly Leu Trp Val Arg
[1120] 1 5 10 15
[1121] Leu Leu Leu Ala Val Phe Leu Leu Gly Val Tyr Gln Ala Tyr Pro Ile
[1122] 20 25 30
[1123] Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg
[1124] 35 40 45
[1125] Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Asp Gln Asp Thr Glu Ala His Leu Glu Ile
[1126] 50 55 60
[1127] Arg Glu Asp Gly Thr Val Val Gly Ala Ala His Arg Ser Pro Glu Ser
[1128] 65 70 75 80
[1129] Leu Leu Glu Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly

[1130] 85 90 95
[1131] Val Lys Ala Ser Arg Phe Leu Cys Gln Gln Pro Asp Gly Ala Leu Tyr
[1132] 100 105 110
[1133] Gly Ser Pro His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu
[1134] 115 120 125
[1135] Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro
[1136] 130 135 140
[1137] Leu Arg Leu Pro Gln Lys Asp Ser Pro Asn Gln Asp Ala Thr Ser Trp
[1138] 145 150 155 160
[1139] Gly Pro Val Arg Phe Leu Pro Met Pro Gly Leu Leu His Glu Pro Gln
[1140] 165 170 175
[1141] Asp Gln Ala Gly Phe Leu Pro Pro Glu Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser
[1142] 180 185 190
[1143] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Leu Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr
[1144] 195 200 205
[1145] Ala Ser
[1146] 210
[1147] <210> 36
[1148] <211> 194
[1149] <212> PRT
[1150] <213> 斑马鱼(Danio rerio)
[1151] <400> 36
[1152] Met Leu Phe Ala Cys Phe Phe Ile Phe Phe Ala Leu Phe Pro His Leu
[1153] 1 5 10 15
[1154] Arg Trp Cys Met Tyr Val Pro Ala Gln Asn Val Leu Leu Gln Phe Gly
[1155] 20 25 30
[1156] Thr Gln Val Arg Glu Arg Leu Leu Tyr Thr Asp Gly Leu Phe Leu Glu
[1157] 35 40 45
[1158] Met Asn Pro Asp Gly Ser Val Lys Gly Ser Pro Glu Lys Asn Leu Asn
[1159] 50 55 60
[1160] Cys Val Leu Glu Leu Arg Ser Val Lys Ala Gly Glu Thr Val Ile Gln
[1161] 65 70 75 80
[1162] Ser Ala Ala Thr Ser Leu Tyr Leu Cys Val Asp Asp Gln Asp Lys Leu
[1163] 85 90 95
[1164] Lys Gly Gln His His Tyr Ser Ala Leu Asp Cys Thr Phe Gln Glu Leu
[1165] 100 105 110
[1166] Leu Leu Asp Gly Tyr Ser Phe Phe Leu Ser Pro His Thr Asn Leu Pro
[1167] 115 120 125
[1168] Val Ser Leu Leu Ser Lys Arg Gln Lys His Gly Asn Pro Leu Ser Arg

[1169] 130 135 140

[1170] Phe Leu Pro Val Ser Arg Ala Glu Asp Ser Arg Thr Gln Glu Val Lys

[1171] 145 150 155 160

[1172] Gln Tyr Ile Gln Asp Ile Asn Leu Asp Ser Asp Asp Pro Leu Gly Met

[1173] 165 170 175

[1174] Gly His Arg Ser His Leu Gln Thr Val Phe Ser Pro Ser Leu His Thr

[1175] 180 185 190

[1176] Lys Lys

[1177] <210> 37

[1178] <211> 1043

[1179] <212> PRT

[1180] <213> 人(Homo sapiens)

[1181] <400> 37

[1182] Met Lys Pro Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Ile Phe

[1183] 1 5 10 15

[1184] Phe Ser Thr Asp Glu Ile Thr Thr Arg Tyr Arg Asn Thr Met Ser Asn

[1185] 20 25 30

[1186] Gly Gly Leu Gln Arg Ser Val Ile Leu Ser Ala Leu Ile Leu Leu Arg

[1187] 35 40 45

[1188] Ala Val Thr Gly Phe Ser Gly Asp Gly Arg Ala Ile Trp Ser Lys Asn

[1189] 50 55 60

[1190] Pro Asn Phe Thr Pro Val Asn Glu Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr

[1191] 65 70 75 80

[1192] Phe Pro Lys Asn Phe Phe Trp Gly Ile Gly Thr Gly Ala Leu Gln Val

[1193] 85 90 95

[1194] Glu Gly Ser Trp Lys Lys Asp Gly Lys Gly Pro Ser Ile Trp Asp His

[1195] 100 105 110

[1196] Phe Ile His Thr His Leu Lys Asn Val Ser Ser Thr Asn Gly Ser Ser

[1197] 115 120 125

[1198] Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Ser Ala Leu Asp Phe Ile

[1199] 130 135 140

[1200] Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro

[1201] 145 150 155 160

[1202] Asp Gly Ile Val Thr Val Ala Asn Ala Lys Gly Leu Gln Tyr Tyr Ser

[1203] 165 170 175

[1204] Thr Leu Leu Asp Ala Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Ile Val Thr Leu

[1205] 180 185 190

[1206] Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Ala Leu Gln Glu Lys Tyr Gly Gly Trp

[1207] 195 200 205

[1208] Lys Asn Asp Thr Ile Ile Asp Ile Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr Cys
[1209] 210 215 220
[1210] Phe Gln Met Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His Asn
[1211] 225 230 235 240
[1212] Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Tyr Gly Thr Gly Met His Ala Pro
[1213] 245 250 255
[1214] Gly Glu Lys Gly Asn Leu Ala Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn Leu
[1215] 260 265 270
[1216] Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asn Thr His Phe Arg
[1217] 275 280 285
[1218] Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp Ile
[1219] 290 295 300
[1220] Glu Pro Asn Arg Ser Glu Asn Thr Met Asp Ile Phe Lys Cys Gln Gln
[1221] 305 310 315 320
[1222] Ser Met Val Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly Asp
[1223] 325 330 335
[1224] Gly Asp Tyr Pro Glu Gly Met Arg Lys Lys Leu Phe Ser Val Leu Pro
[1225] 340 345 350
[1226] Ile Phe Ser Glu Ala Glu Lys His Glu Met Arg Gly Thr Ala Asp Phe
[1227] 355 360 365
[1228] Phe Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Lys Pro Leu Asn Thr Met
[1229] 370 375 380
[1230] Ala Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Glu Ala Leu Asn
[1231] 385 390 395 400
[1232] Trp Ile Lys Leu Glu Tyr Asn Asn Pro Arg Ile Leu Ile Ala Glu Asn
[1233] 405 410 415
[1234] Gly Trp Phe Thr Asp Ser Arg Val Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala Ile
[1235] 420 425 430
[1236] Tyr Met Met Lys Asn Phe Leu Ser Gln Val Leu Gln Ala Ile Arg Leu
[1237] 435 440 445
[1238] Asp Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Leu Asp Gly
[1239] 450 455 460
[1240] Phe Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Ile Arg Arg Gly Leu Phe Tyr Val
[1241] 465 470 475 480
[1242] Asp Phe Asn Ser Lys Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala His
[1243] 485 490 495
[1244] Tyr Tyr Lys Gln Ile Ile Arg Glu Asn Gly Phe Ser Leu Lys Glu Ser
[1245] 500 505 510
[1246] Thr Pro Asp Val Gln Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly Val

[1247] 515 520 525
[1248] Thr Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Ser Val Ala Ser Ser Pro Gln Phe
[1249] 530 535 540
[1250] Ser Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Ala Thr Gly Asn Arg Leu Leu
[1251] 545 550 555 560
[1252] His Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ala Gln Cys Thr
[1253] 565 570 575
[1254] Asp Phe Val Asn Ile Lys Lys Gln Leu Glu Met Leu Ala Arg Met Lys
[1255] 580 585 590
[1256] Val Thr His Tyr Arg Phe Ala Leu Asp Trp Ala Ser Val Leu Pro Thr
[1257] 595 600 605
[1258] Gly Asn Leu Ser Ala Val Asn Arg Gln Ala Leu Arg Tyr Tyr Arg Cys
[1259] 610 615 620
[1260] Val Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Ile Ser Ala Met Val Thr Leu
[1261] 625 630 635 640
[1262] Tyr Tyr Pro Thr His Ala His Leu Gly Leu Pro Glu Pro Leu Leu His
[1263] 645 650 655
[1264] Ala Asp Gly Trp Leu Asn Pro Ser Thr Ala Glu Ala Phe Gln Ala Tyr
[1265] 660 665 670
[1266] Ala Gly Leu Cys Phe Gln Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp Ile
[1267] 675 680 685
[1268] Thr Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Ile Tyr Asn Arg Ser Gly
[1269] 690 695 700
[1270] Asn Asp Thr Tyr Gly Ala Ala His Asn Leu Leu Val Ala His Ala Leu
[1271] 705 710 715 720
[1272] Ala Trp Arg Leu Tyr Asp Arg Gln Phe Arg Pro Ser Gln Arg Gly Ala
[1273] 725 730 735
[1274] Val Ser Leu Ser Leu His Ala Asp Trp Ala Glu Pro Ala Asn Pro Tyr
[1275] 740 745 750
[1276] Ala Asp Ser His Trp Arg Ala Ala Glu Arg Phe Leu Gln Phe Glu Ile
[1277] 755 760 765
[1278] Ala Trp Phe Ala Glu Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Ala Ala
[1279] 770 775 780
[1280] Met Arg Glu Tyr Ile Ala Ser Lys His Arg Arg Gly Leu Ser Ser Ser
[1281] 785 790 795 800
[1282] Ala Leu Pro Arg Leu Thr Glu Ala Glu Arg Arg Leu Leu Lys Gly Thr
[1283] 805 810 815
[1284] Val Asp Phe Cys Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Met His
[1285] 820 825 830

[1286] Glu Gln Leu Ala Gly Ser Arg Tyr Asp Ser Asp Arg Asp Ile Gln Phe
[1287] 835 840 845
[1288] Leu Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ser Ser Pro Thr Arg Leu Ala Val Ile
[1289] 850 855 860
[1290] Pro Trp Gly Val Arg Lys Leu Leu Arg Trp Val Arg Arg Asn Tyr Gly
[1291] 865 870 875 880
[1292] Asp Met Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Ser Gly Ile Asp Asp Gln Ala Leu
[1293] 885 890 895
[1294] Glu Asp Asp Arg Leu Arg Lys Tyr Tyr Leu Gly Lys Tyr Leu Gln Glu
[1295] 900 905 910
[1296] Val Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Val Arg Ile Lys Gly Tyr Tyr
[1297] 915 920 925
[1298] Ala Phe Lys Leu Ala Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe Phe
[1299] 930 935 940
[1300] Thr Ser Asp Phe Lys Ala Lys Ser Ser Ile Gln Phe Tyr Asn Lys Val
[1301] 945 950 955 960
[1302] Ile Ser Ser Arg Gly Phe Pro Phe Glu Asn Ser Ser Ser Arg Cys Ser
[1303] 965 970 975
[1304] Gln Thr Gln Glu Asn Thr Glu Cys Thr Val Cys Leu Phe Leu Val Gln
[1305] 980 985 990
[1306] Lys Lys Pro Leu Ile Phe Leu Gly Cys Cys Phe Phe Ser Thr Leu Val
[1307] 995 1000 1005
[1308] Leu Leu Leu Ser Ile Ala Ile Phe Gln Arg Gln Lys Arg Arg Lys
[1309] 1010 1015 1020
[1310] Phe Trp Lys Ala Lys Asn Leu Gln His Ile Pro Leu Lys Lys Gly
[1311] 1025 1030 1035
[1312] Lys Arg Val Val Ser
[1313] 1040
[1314] <210> 38
[1315] <211> 1043
[1316] <212> PRT
[1317] <213> 小鼠(Mus musculus)
[1318] <400> 38
[1319] Met Lys Thr Gly Cys Ala Ala Gly Ser Pro Gly Asn Glu Trp Ile Phe
[1320] 1 5 10 15
[1321] Phe Ser Ser Asp Glu Arg Asn Thr Arg Ser Arg Lys Thr Met Ser Asn
[1322] 20 25 30
[1323] Arg Ala Leu Gln Arg Ser Ala Val Leu Ser Ala Phe Val Leu Leu Arg
[1324] 35 40 45

[1325] Ala Val Thr Gly Phe Ser Gly Asp Gly Lys Ala Ile Trp Asp Lys Lys
[1326] 50 55 60
[1327] Gln Tyr Val Ser Pro Val Asn Pro Ser Gln Leu Phe Leu Tyr Asp Thr
[1328] 65 70 75 80
[1329] Phe Pro Lys Asn Phe Ser Trp Gly Val Gly Thr Gly Ala Phe Gln Val
[1330] 85 90 95
[1331] Glu Gly Ser Trp Lys Thr Asp Gly Arg Gly Pro Ser Ile Trp Asp Arg
[1332] 100 105 110
[1333] Tyr Val Tyr Ser His Leu Arg Gly Val Asn Gly Thr Asp Arg Ser Thr
[1334] 115 120 125
[1335] Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Leu Ala Leu Asp Phe Leu
[1336] 130 135 140
[1337] Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg Leu Phe Pro
[1338] 145 150 155 160
[1339] Asn Gly Thr Val Ala Ala Val Asn Ala Gln Gly Leu Arg Tyr Tyr Arg
[1340] 165 170 175
[1341] Ala Leu Leu Asp Ser Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Pro Ile Val Thr
[1342] 180 185 190
[1343] Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Thr Leu Gln Glu Glu Tyr Gly Gly
[1344] 195 200 205
[1345] Trp Lys Asn Ala Thr Met Ile Asp Leu Phe Asn Asp Tyr Ala Thr Tyr
[1346] 210 215 220
[1347] Cys Phe Gln Thr Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile His
[1348] 225 230 235 240
[1349] Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Phe Gly Thr Gly Met His Ala
[1350] 245 250 255
[1351] Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Thr Ala Val Tyr Thr Val Gly His Asn
[1352] 260 265 270
[1353] Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asp Lys Asn Phe
[1354] 275 280 285
[1355] Arg Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly Ser His Trp
[1356] 290 295 300
[1357] Ile Glu Pro Asn Arg Thr Asp Asn Met Glu Asp Val Ile Asn Cys Gln
[1358] 305 310 315 320
[1359] His Ser Met Ser Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro Ile His Gly
[1360] 325 330 335
[1361] Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Phe Met Lys Thr Gly Ala Met Ile Pro Glu
[1362] 340 345 350
[1363] Phe Ser Glu Ala Glu Lys Glu Glu Val Arg Gly Thr Ala Asp Phe Phe

[1364] 355 360 365
[1365] Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Arg Pro Ser Asn Thr Val Val
[1366] 370 375 380
[1367] Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg Gln Val Leu Asn Trp
[1368] 385 390 395 400
[1369] Ile Lys Leu Glu Tyr Asp Asp Pro Gln Ile Leu Ile Ser Glu Asn Gly
[1370] 405 410 415
[1371] Trp Phe Thr Asp Ser Tyr Ile Lys Thr Glu Asp Thr Thr Ala Ile Tyr
[1372] 420 425 430
[1373] Met Met Lys Asn Phe Leu Asn Gln Val Leu Gln Ala Ile Lys Phe Asp
[1374] 435 440 445
[1375] Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Thr Leu Leu Asp Gly Phe
[1376] 450 455 460
[1377] Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Thr Arg Arg Gly Leu Phe Tyr Val Asp
[1378] 465 470 475 480
[1379] Phe Asn Ser Glu Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys Ser Ser Ala His Tyr
[1380] 485 490 495
[1381] Tyr Lys Gln Ile Ile Gln Asp Asn Gly Phe Pro Leu Lys Glu Ser Thr
[1382] 500 505 510
[1383] Pro Asp Met Lys Gly Arg Phe Pro Cys Asp Phe Ser Trp Gly Val Thr
[1384] 515 520 525
[1385] Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Phe Thr Val Ser Ser Pro Gln Phe Thr
[1386] 530 535 540
[1387] Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Val Thr Gly Asn Arg Leu Leu Tyr
[1388] 545 550 555 560
[1389] Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro Ser Gln Cys Thr Asp
[1390] 565 570 575
[1391] Tyr Val Ser Ile Lys Lys Arg Val Glu Met Leu Ala Lys Met Lys Val
[1392] 580 585 590
[1393] Thr His Tyr Gln Phe Ala Leu Asp Trp Thr Ser Ile Leu Pro Thr Gly
[1394] 595 600 605
[1395] Asn Leu Ser Lys Val Asn Arg Gln Val Leu Arg Tyr Tyr Arg Cys Val
[1396] 610 615 620
[1397] Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Val Phe Pro Met Val Thr Leu Tyr
[1398] 625 630 635 640
[1399] His Pro Thr His Ser His Leu Gly Leu Pro Leu Pro Leu Leu Ser Ser
[1400] 645 650 655
[1401] Gly Gly Trp Leu Asn Met Asn Thr Ala Lys Ala Phe Gln Asp Tyr Ala
[1402] 660 665 670

[1403] Glu Leu Cys Phe Arg Glu Leu Gly Asp Leu Val Lys Leu Trp Ile Thr
[1404] 675 680 685
[1405] Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Met Tyr Asn Arg Thr Ser Asn
[1406] 690 695 700
[1407] Asp Thr Tyr Arg Ala Ala His Asn Leu Met Ile Ala His Ala Gln Val
[1408] 705 710 715 720
[1409] Trp His Leu Tyr Asp Arg Gln Tyr Arg Pro Val Gln His Gly Ala Val
[1410] 725 730 735
[1411] Ser Leu Ser Leu His Cys Asp Trp Ala Glu Pro Ala Asn Pro Phe Val
[1412] 740 745 750
[1413] Asp Ser His Trp Lys Ala Ala Glu Arg Phe Leu Gln Phe Glu Ile Ala
[1414] 755 760 765
[1415] Trp Phe Ala Asp Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp Tyr Pro Ser Val Met
[1416] 770 775 780
[1417] Lys Glu Tyr Ile Ala Ser Lys Asn Gln Arg Gly Leu Ser Ser Ser Val
[1418] 785 790 795 800
[1419] Leu Pro Arg Phe Thr Ala Lys Glu Ser Arg Leu Val Lys Gly Thr Val
[1420] 805 810 815
[1421] Asp Phe Tyr Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg Phe Val Ile His Lys
[1422] 820 825 830
[1423] Gln Leu Asn Thr Asn Arg Ser Val Ala Asp Arg Asp Val Gln Phe Leu
[1424] 835 840 845
[1425] Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ser Ser Pro Ser Arg Leu Ala Val Thr Pro
[1426] 850 855 860
[1427] Trp Gly Val Arg Lys Leu Leu Ala Trp Ile Arg Arg Asn Tyr Arg Asp
[1428] 865 870 875 880
[1429] Arg Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Asn Gly Ile Asp Asp Leu Ala Leu Glu
[1430] 885 890 895
[1431] Asp Asp Gln Ile Arg Lys Tyr Tyr Leu Glu Lys Tyr Val Gln Glu Ala
[1432] 900 905 910
[1433] Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Val Lys Ile Lys Gly Tyr Tyr Ala
[1434] 915 920 925
[1435] Phe Lys Leu Thr Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg Phe Gly Phe Phe Thr
[1436] 930 935 940
[1437] Ser Asp Phe Arg Ala Lys Ser Ser Val Gln Phe Tyr Ser Lys Leu Ile
[1438] 945 950 955 960
[1439] Ser Ser Ser Gly Leu Pro Ala Glu Asn Arg Ser Pro Ala Cys Gly Gln
[1440] 965 970 975
[1441] Pro Ala Glu Asp Thr Asp Cys Thr Ile Cys Ser Phe Leu Val Glu Lys

[1442] 980 985 990

[1443] Lys Pro Leu Ile Phe Phe Gly Cys Cys Phe Ile Ser Thr Leu Ala Val

[1444] 995 1000 1005

[1445] Leu Leu Ser Ile Thr Val Phe His His Gln Lys Arg Arg Lys Phe

[1446] 1010 1015 1020

[1447] Gln Lys Ala Arg Asn Leu Gln Asn Ile Pro Leu Lys Lys Gly His

[1448] 1025 1030 1035

[1449] Ser Arg Val Phe Ser

[1450] 1040

[1451] <210> 39

[1452] <211> 63

[1453] <212> DNA

[1454] <213> 人工

[1455] <220>

[1456] <223> FGF21分泌构建体,克隆进pVK7ara (Nde/Eco)

[1457] <400> 39

[1458] atgaaaaaaa ctgctatcgc gatcgctgta gctctggctg gtttcgcgac cgtagctaac 60

[1459] gct 63

[1460] <210> 40

[1461] <211> 21

[1462] <212> PRT

[1463] <213> 人工

[1464] <220>

[1465] <223> FGF21分泌构建体,克隆进pVK7ara (Nde/Eco)

[1466] <400> 40

[1467] Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala

[1468] 1 5 10 15

[1469] Thr Val Ala Asn Ala

[1470] 20

[1471] <210> 41

[1472] <211> 78

[1473] <212> DNA

[1474] <213> 人工

[1475] <220>

[1476] <223> FGF21 分泌构建体,克隆进pVK7ara (Nde/Eco)

[1477] <400> 41

[1478] atgaaaataa aaacaggtgc acgcatcctc gcattatccg cattaacgac gatgatgttt 60

[1479] tccgcctcgg ctctcgcc 78

[1480] <210> 42

[1481] <211> 26
[1482] <212> PRT
[1483] <213> 人工
[1484] <220>
[1485] <223> FGF21分泌构建体,克隆进pVK7ara (Nde/Eco)
[1486] <400> 42
[1487] Met Lys Ile Lys Thr Gly Ala Arg Ile Leu Ala Leu Ser Ala Leu Thr
[1488] 1 5 10 15
[1489] Thr Met Met Phe Ser Ala Ser Ala Leu Ala
[1490] 20 25
[1491] <210> 43
[1492] <211> 69
[1493] <212> DNA
[1494] <213> 人工
[1495] <220>
[1496] <223> FGF21分泌构建体,克隆进pVK7ara (Nde/Eco)
[1497] <400> 43
[1498] atgaaaaaga atatcgcatt tcttcttgca tctatgttcg ttttttctat tgctacaaat 60
[1499] gcctatgca 69
[1500] <210> 44
[1501] <211> 23
[1502] <212> PRT
[1503] <213> 人工
[1504] <220>
[1505] <223> FGF21分泌构建体,克隆进pVK7ara (Nde/Eco)
[1506] <400> 44
[1507] Met Lys Lys Asn Ile Ala Phe Leu Leu Ala Ser Met Phe Val Phe Ser
[1508] 1 5 10 15
[1509] Ile Ala Thr Asn Ala Tyr Ala
[1510] 20
[1511] <210> 45
[1512] <211> 8
[1513] <212> PRT
[1514] <213> 人工序列
[1515] <220>
[1516] <223> 合成肽
[1517] <400> 45
[1518] His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser
[1519] 1 5

[1520] <210> 46
[1521] <211> 4
[1522] <212> PRT
[1523] <213> 人工序列
[1524] <220>
[1525] <223> 合成肽
[1526] <400> 46
[1527] Tyr Ser Gln Thr
[1528] 1
[1529] <210> 47
[1530] <211> 7
[1531] <212> PRT
[1532] <213> 人工序列
[1533] <220>
[1534] <223> 合成肽
[1535] <400> 47
[1536] Tyr Gly Ser Lys Tyr Tyr Tyr
[1537] 1 5
[1538] <210> 48
[1539] <211> 86
[1540] <212> PRT
[1541] <213> 人工序列
[1542] <220>
[1543] <223> 合成多肽
[1544] <400> 48
[1545] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Pro Lys
[1546] 1 5 10 15
[1547] Tyr Asp Lys Thr Gly His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1548] 20 25 30
[1549] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Thr Arg Gln Thr Thr
[1550] 35 40 45
[1551] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1552] 50 55 60
[1553] Tyr Ala Val Ser Lys Asp Asp Tyr Tyr Pro His Glu His Arg Pro Ile
[1554] 65 70 75 80
[1555] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1556] 85
[1557] <210> 49
[1558] <211> 86

[1559] <212> PRT
[1560] <213> 人工序列
[1561] <220>
[1562] <223> 合成多肽
[1563] <400> 49
[1564] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Asn
[1565] 1 5 10 15
[1566] Asp Gly Pro Gly Leu Ser Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1567] 20 25 30
[1568] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ser Ser Gln Thr Thr
[1569] 35 40 45
[1570] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1571] 50 55 60
[1572] Tyr Ala Val Ser Tyr Tyr Thr Lys Lys Ala Tyr Ser Ala Gly Pro Ile
[1573] 65 70 75 80
[1574] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1575] 85
[1576] <210> 50
[1577] <211> 86
[1578] <212> PRT
[1579] <213> 人工序列
[1580] <220>
[1581] <223> 合成多肽
[1582] <400> 50
[1583] Glu Met Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Glu Asp
[1584] 1 5 10 15
[1585] Asp Ser Tyr Tyr Ser Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1586] 20 25 30
[1587] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ser Asp Leu Tyr Thr
[1588] 35 40 45
[1589] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1590] 50 55 60
[1591] Tyr Ala Val Thr Tyr Asp Val Thr Asp Leu Ile Met His Glu Pro Ile
[1592] 65 70 75 80
[1593] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1594] 85
[1595] <210> 51
[1596] <211> 86
[1597] <212> PRT

[1598] <213> 人工序列
[1599] <220>
[1600] <223> 合成多肽
[1601] <400> 51
[1602] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Glu Asp
[1603] 1 5 10 15
[1604] Asp Ser Tyr Tyr Ser Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1605] 20 25 30
[1606] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ser Asp Leu Tyr Thr
[1607] 35 40 45
[1608] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1609] 50 55 60
[1610] Tyr Ala Val Thr Tyr Asp Val Thr Asp Leu Ile Met His Glu Pro Ile
[1611] 65 70 75 80
[1612] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1613] 85
[1614] <210> 52
[1615] <211> 86
[1616] <212> PRT
[1617] <213> 人工序列
[1618] <220>
[1619] <223> 合成多肽
[1620] <400> 52
[1621] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Tyr Met
[1622] 1 5 10 15
[1623] Asp Glu Tyr Asp Val Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1624] 20 25 30
[1625] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Asn Tyr Tyr Asn Thr
[1626] 35 40 45
[1627] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1628] 50 55 60
[1629] Tyr Ala Val Thr Arg Ile Lys Ala Asn Asn Tyr Met Tyr Gly Pro Ile
[1630] 65 70 75 80
[1631] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1632] 85
[1633] <210> 53
[1634] <211> 86
[1635] <212> PRT
[1636] <213> 人工序列

[1637] <220>

[1638] <223> 合成多肽

[1639] <400> 53

[1640] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asn His

[1641] 1 5 10 15

[1642] Leu Glu His Val Ala Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1643] 20 25 30

[1644] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Glu Tyr Pro Thr Thr

[1645] 35 40 45

[1646] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[1647] 50 55 60

[1648] Tyr Ala Val Thr Ile Thr Met Leu Lys Tyr Pro Thr Gln Ser Pro Ile

[1649] 65 70 75 80

[1650] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

[1651] 85

[1652] <210> 54

[1653] <211> 86

[1654] <212> PRT

[1655] <213> 人工序列

[1656] <220>

[1657] <223> 合成多肽

[1658] <400> 54

[1659] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Gly His

[1660] 1 5 10 15

[1661] Tyr Arg Arg Ser Gly His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1662] 20 25 30

[1663] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Asp Pro Ser Ser Tyr Thr

[1664] 35 40 45

[1665] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[1666] 50 55 60

[1667] Tyr Ala Val Ser Lys Asp Asp Tyr Tyr Pro His Glu His Arg Pro Ile

[1668] 65 70 75 80

[1669] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

[1670] 85

[1671] <210> 55

[1672] <211> 84

[1673] <212> PRT

[1674] <213> 人工序列

[1675] <220>

[1676] <223> 合成多肽

[1677] <400> 55

[1678] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala

[1679] 1 5 10 15

[1680] Ser His Tyr Glu Arg Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1681] 20 25 30

[1682] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Arg Tyr His His Thr

[1683] 35 40 45

[1684] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[1685] 50 55 60

[1686] Tyr Ala Val Thr Gln Ala Gln Glu His Tyr Gln Pro Pro Ile Ser Ile

[1687] 65 70 75 80

[1688] Asn Tyr Arg Thr

[1689] <210> 56

[1690] <211> 82

[1691] <212> PRT

[1692] <213> 人工序列

[1693] <220>

[1694] <223> 合成多肽

[1695] <400> 56

[1696] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asn Ser

[1697] 1 5 10 15

[1698] Tyr Tyr His Ser Ala Asp Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1699] 20 25 30

[1700] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Tyr Pro Pro Thr Thr

[1701] 35 40 45

[1702] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[1703] 50 55 60

[1704] Tyr Ala Val Tyr Ser Ala Lys Ser Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr

[1705] 65 70 75 80

[1706] Arg Thr

[1707] <210> 57

[1708] <211> 86

[1709] <212> PRT

[1710] <213> 人工序列

[1711] <220>

[1712] <223> 合成多肽

[1713] <400> 57

[1714] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Lys

[1715] 1 5 10 15
[1716] Tyr Ser Lys His Gly His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1717] 20 25 30
[1718] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ser Gly Asn Ala Thr
[1719] 35 40 45
[1720] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1721] 50 55 60
[1722] Tyr Ala Val Glu Asp Thr Asn Asp Tyr Pro His Thr His Arg Pro Ile
[1723] 65 70 75 80
[1724] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1725] 85
[1726] <210> 58
[1727] <211> 84
[1728] <212> PRT
[1729] <213> 人工序列
[1730] <220>
[1731] <223> 合成多肽
[1732] <400> 58
[1733] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Gly
[1734] 1 5 10 15
[1735] Glu Pro Asp Gln Thr Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1736] 20 25 30
[1737] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Pro Tyr Arg Arg Thr
[1738] 35 40 45
[1739] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1740] 50 55 60
[1741] Tyr Ala Val Thr Ser Gly Tyr Thr Gly His Tyr Gln Pro Ile Ser Ile
[1742] 65 70 75 80
[1743] Asn Tyr Arg Thr
[1744] <210> 59
[1745] <211> 86
[1746] <212> PRT
[1747] <213> 人工序列
[1748] <220>
[1749] <223> 合成多肽
[1750] <400> 59
[1751] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Lys
[1752] 1 5 10 15
[1753] Tyr Ser Lys His Gly His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1754] 20 25 30
[1755] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Asp Pro Ser Ser Tyr Thr
[1756] 35 40 45
[1757] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1758] 50 55 60
[1759] Tyr Ala Val Ser Lys Asp Asp Tyr Tyr Pro His Glu His Arg Pro Ile
[1760] 65 70 75 80
[1761] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1762] 85
[1763] <210> 60
[1764] <211> 82
[1765] <212> PRT
[1766] <213> 人工序列
[1767] <220>
[1768] <223> 合成多肽
[1769] <400> 60
[1770] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Tyr Glu
[1771] 1 5 10 15
[1772] Pro Tyr Thr Pro Ile His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1773] 20 25 30
[1774] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Tyr Tyr Gly Thr
[1775] 35 40 45
[1776] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1777] 50 55 60
[1778] Tyr Ala Val Tyr Gly Tyr Tyr Gln Tyr Thr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
[1779] 65 70 75 80
[1780] Arg Thr
[1781] <210> 61
[1782] <211> 86
[1783] <212> PRT
[1784] <213> 人工序列
[1785] <220>
[1786] <223> 合成多肽
[1787] <400> 61
[1788] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Lys
[1789] 1 5 10 15
[1790] Tyr Ser Lys His Gly His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1791] 20 25 30
[1792] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ser Gly Asn Ala Thr

[1793] 35 40 45

[1794] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[1795] 50 55 60

[1796] Tyr Ala Val Ser Asp Asp Asn Lys Tyr Tyr His Gln His Arg Pro Ile

[1797] 65 70 75 80

[1798] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

[1799] 85

[1800] <210> 62

[1801] <211> 86

[1802] <212> PRT

[1803] <213> 人工序列

[1804] <220>

[1805] <223> 合成多肽

[1806] <400> 62

[1807] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Gly His

[1808] 1 5 10 15

[1809] Tyr Arg Arg Ser Gly His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1810] 20 25 30

[1811] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Asp Pro Ser Ser Tyr Thr

[1812] 35 40 45

[1813] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[1814] 50 55 60

[1815] Tyr Ala Val Ser Lys Asp Asp Tyr Tyr Pro His Glu His Arg Pro Ile

[1816] 65 70 75 80

[1817] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

[1818] 85

[1819] <210> 63

[1820] <211> 86

[1821] <212> PRT

[1822] <213> 人工序列

[1823] <220>

[1824] <223> 合成多肽

[1825] <400> 63

[1826] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Lys

[1827] 1 5 10 15

[1828] Tyr Ser Lys His Gly His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1829] 20 25 30

[1830] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ser Gly Asn Ala Thr

[1831] 35 40 45

[1832] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1833] 50 55 60
[1834] Tyr Ala Val Glu Asp Thr Asn Asp Tyr Pro His Thr His Arg Pro Ile
[1835] 65 70 75 80
[1836] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1837] 85
[1838] <210> 64
[1839] <211> 82
[1840] <212> PRT
[1841] <213> 人工序列
[1842] <220>
[1843] <223> 合成多肽
[1844] <400> 64
[1845] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Tyr Glu
[1846] 1 5 10 15
[1847] Pro Gly Ala Ser Val Tyr Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1848] 20 25 30
[1849] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ser Tyr Tyr His Thr
[1850] 35 40 45
[1851] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1852] 50 55 60
[1853] Tyr Ala Val Tyr Gly Tyr Tyr Glu Tyr Glu Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
[1854] 65 70 75 80
[1855] Arg Thr
[1856] <210> 65
[1857] <211> 82
[1858] <212> PRT
[1859] <213> 人工序列
[1860] <220>
[1861] <223> 合成多肽
[1862] <400> 65
[1863] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Gln Ser
[1864] 1 5 10 15
[1865] Tyr Tyr Ala His Ser Asp Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1866] 20 25 30
[1867] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Tyr Pro Pro Gln Thr
[1868] 35 40 45
[1869] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1870] 50 55 60

[1871] Tyr Ala Val Tyr Ala Gly Ser Ser Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
[1872] 65 70 75 80
[1873] Arg Thr
[1874] <210> 66
[1875] <211> 86
[1876] <212> PRT
[1877] <213> 人工序列
[1878] <220>
[1879] <223> 合成多肽
[1880] <400> 66
[1881] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Gly His
[1882] 1 5 10 15
[1883] Tyr Arg Arg Ser Gly His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1884] 20 25 30
[1885] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Asp Pro Ser Ser Tyr Thr
[1886] 35 40 45
[1887] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1888] 50 55 60
[1889] Tyr Ala Val Ser Lys Asp Asp Tyr Tyr Pro His Glu His Arg Pro Ile
[1890] 65 70 75 80
[1891] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1892] 85
[1893] <210> 67
[1894] <211> 82
[1895] <212> PRT
[1896] <213> 人工序列
[1897] <220>
[1898] <223> 合成多肽
[1899] <400> 67
[1900] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Pro Glu
[1901] 1 5 10 15
[1902] Pro Gly Thr Pro Val Tyr Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1903] 20 25 30
[1904] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ala Tyr Tyr Gly Thr
[1905] 35 40 45
[1906] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1907] 50 55 60
[1908] Tyr Ala Val Tyr Gly Tyr Tyr Asp Tyr Ser Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
[1909] 65 70 75 80

[1910] Arg Thr

[1911] <210> 68

[1912] <211> 86

[1913] <212> PRT

[1914] <213> 人工序列

[1915] <220>

[1916] <223> 合成多肽

[1917] <400> 68

[1918] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Tyr Arg

[1919] 1 5 10 15

[1920] Tyr Glu Lys Thr Gln His Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1921] 20 25 30

[1922] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Pro Glu Ser Gly Thr

[1923] 35 40 45

[1924] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[1925] 50 55 60

[1926] Tyr Ala Val Tyr Ala Gly Tyr Glu Tyr Pro His Thr His Arg Pro Ile

[1927] 65 70 75 80

[1928] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

[1929] 85

[1930] <210> 69

[1931] <211> 87

[1932] <212> PRT

[1933] <213> 人工序列

[1934] <220>

[1935] <223> 合成多肽

[1936] <400> 69

[1937] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Val Lys

[1938] 1 5 10 15

[1939] Ser Glu Glu Tyr Tyr Arg Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly

[1940] 20 25 30

[1941] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Tyr Tyr Val His Thr

[1942] 35 40 45

[1943] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[1944] 50 55 60

[1945] Tyr Ala Val Thr Glu Tyr Tyr Tyr Ala Gly Ala Val Val Ser Val Pro

[1946] 65 70 75 80

[1947] Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr

[1948] 85

[1949] <210> 70
[1950] <211> 82
[1951] <212> PRT
[1952] <213> 人工序列
[1953] <220>
[1954] <223> 合成多肽
[1955] <400> 70
[1956] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Tyr Asp
[1957] 1 5 10 15
[1958] Pro Tyr Thr Tyr Gly Ser Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1959] 20 25 30
[1960] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Gly Pro Tyr Thr Thr Thr
[1961] 35 40 45
[1962] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1963] 50 55 60
[1964] Tyr Ala Val Ser Tyr Tyr Tyr Ser Thr Gln Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
[1965] 65 70 75 80
[1966] Arg Thr
[1967] <210> 71
[1968] <211> 86
[1969] <212> PRT
[1970] <213> 人工序列
[1971] <220>
[1972] <223> 合成多肽
[1973] <400> 71
[1974] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Ser Asn
[1975] 1 5 10 15
[1976] Asp Gly Pro Gly Leu Ser Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1977] 20 25 30
[1978] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Ser Ser Gln Thr Thr
[1979] 35 40 45
[1980] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[1981] 50 55 60
[1982] Tyr Ala Val Ser Tyr Tyr Thr Lys Lys Ala Tyr Ser Ala Gly Pro Ile
[1983] 65 70 75 80
[1984] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr
[1985] 85
[1986] <210> 72
[1987] <211> 82

[1988] <212> PRT
[1989] <213> 人工序列
[1990] <220>
[1991] <223> 合成多肽
[1992] <400> 72
[1993] Glu Val Val Ala Ala Thr Pro Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Pro Asp
[1994] 1 5 10 15
[1995] Pro Tyr Tyr Lys Pro Asp Tyr Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly
[1996] 20 25 30
[1997] Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu Phe Thr Val Pro Arg Asp Tyr Thr Thr
[1998] 35 40 45
[1999] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[2000] 50 55 60
[2001] Tyr Ala Val Tyr Ser Tyr Tyr Gly Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr
[2002] 65 70 75 80
[2003] Arg Thr
[2004] <210> 73
[2005] <211> 12
[2006] <212> PRT
[2007] <213> 人工
[2008] <220>
[2009] <223> 合成序列
[2010] <400> 73
[2011] Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro
[2012] 1 5 10
[2013] <210> 74
[2014] <211> 8
[2015] <212> PRT
[2016] <213> 人工
[2017] <220>
[2018] <223> 合成序列
[2019] <400> 74
[2020] Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2021] 1 5
[2022] <210> 75
[2023] <211> 6
[2024] <212> PRT
[2025] <213> 人工
[2026] <220>

[2027] <223> 合成序列
[2028] <400> 75
[2029] Glu Pro Lys Ser Ser Asp
[2030] 1 5
[2031] <210> 76
[2032] <211> 21
[2033] <212> PRT
[2034] <213> 人工
[2035] <220>
[2036] <223> 合成序列
[2037] <400> 76
[2038] Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro Thr Ala Gln Pro Gln
[2039] 1 5 10 15
[2040] Ala Glu Gly Leu Ala
[2041] 20
[2042] <210> 77
[2043] <211> 17
[2044] <212> PRT
[2045] <213> 人工
[2046] <220>
[2047] <223> 合成序列
[2048] <400> 77
[2049] Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Glu Leu
[2050] 1 5 10 15
[2051] Asp
[2052] <210> 78
[2053] <211> 9
[2054] <212> PRT
[2055] <213> 人工
[2056] <220>
[2057] <223> 合成序列
[2058] <400> 78
[2059] Gly Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser
[2060] 1 5
[2061] <210> 79
[2062] <211> 13
[2063] <212> PRT
[2064] <213> 人工
[2065] <220>

[2066] <223> 合成序列

[2067] <400> 79

[2068] Gly Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser

[2069] 1 5 10

[2070] <210> 80

[2071] <211> 17

[2072] <212> PRT

[2073] <213> 人工

[2074] <220>

[2075] <223> 合成序列

[2076] <400> 80

[2077] Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Glu Gly Glu Leu

[2078] 1 5 10 15

[2079] Glu

[2080] <210> 81

[2081] <211> 5

[2082] <212> PRT

[2083] <213> 人工

[2084] <220>

[2085] <223> 合成序列

[2086] <400> 81

[2087] Gly Ser Gly Ser Gly

[2088] 1 5

[2089] <210> 82

[2090] <211> 4

[2091] <212> PRT

[2092] <213> 人工

[2093] <220>

[2094] <223> 合成序列

[2095] <400> 82

[2096] Gly Ser Gly Cys

[2097] 1

[2098] <210> 83

[2099] <211> 7

[2100] <212> PRT

[2101] <213> 人工

[2102] <220>

[2103] <223> 合成序列

[2104] <400> 83

[2105] Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2106] 1 5
[2107] <210> 84
[2108] <211> 4
[2109] <212> PRT
[2110] <213> 人工
[2111] <220>
[2112] <223> 合成序列
[2113] <400> 84
[2114] Gly Ser Gly Ser
[2115] 1
[2116] <210> 85
[2117] <211> 8
[2118] <212> PRT
[2119] <213> 人工
[2120] <220>
[2121] <223> 合成序列
[2122] <400> 85
[2123] Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser
[2124] 1 5
[2125] <210> 86
[2126] <211> 6
[2127] <212> PRT
[2128] <213> 人工
[2129] <220>
[2130] <223> 合成序列
[2131] <400> 86
[2132] Gly Ser Gly Ser Gly Ser
[2133] 1 5
[2134] <210> 87
[2135] <211> 6
[2136] <212> PRT
[2137] <213> 人工
[2138] <220>
[2139] <223> 合成序列
[2140] <400> 87
[2141] Thr Val Ala Ala Pro Ser
[2142] 1 5
[2143] <210> 88

[2144] <211> 8
[2145] <212> PRT
[2146] <213> 人工
[2147] <220>
[2148] <223> 合成序列
[2149] <400> 88
[2150] Lys Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[2151] 1 5
[2152] <210> 89
[2153] <211> 13
[2154] <212> PRT
[2155] <213> 人工
[2156] <220>
[2157] <223> 合成序列
[2158] <400> 89
[2159] Lys Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
[2160] 1 5 10
[2161] <210> 90
[2162] <211> 9
[2163] <212> PRT
[2164] <213> 人工
[2165] <220>
[2166] <223> 合成序列
[2167] <400> 90
[2168] Lys Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser
[2169] 1 5
[2170] <210> 91
[2171] <211> 18
[2172] <212> PRT
[2173] <213> 人工
[2174] <220>
[2175] <223> 合成序列
[2176] <400> 91
[2177] Lys Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Glu
[2178] 1 5 10 15
[2179] Leu Asp
[2180] <210> 92
[2181] <211> 7
[2182] <212> PRT

[2183] <213> 人工

[2184] <220>

[2185] <223> 合成序列

[2186] <400> 92

[2187] Lys Thr Val Ala Ala Pro Ser

[2188] 1 5

[2189] <210> 93

[2190] <211> 9

[2191] <212> PRT

[2192] <213> 人工

[2193] <220>

[2194] <223> 合成序列

[2195] <400> 93

[2196] Lys Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

[2197] 1 5

[2198] <210> 94

[2199] <211> 14

[2200] <212> PRT

[2201] <213> 人工

[2202] <220>

[2203] <223> 合成序列

[2204] <400> 94

[2205] Lys Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly

[2206] 1 5 10

[2207] <210> 95

[2208] <211> 10

[2209] <212> PRT

[2210] <213> 人工

[2211] <220>

[2212] <223> 合成序列

[2213] <400> 95

[2214] Lys Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser Gly

[2215] 1 5 10

[2216] <210> 96

[2217] <211> 19

[2218] <212> PRT

[2219] <213> 人工

[2220] <220>

[2221] <223> 合成序列

[2222] <400> 96

[2223] Lys Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Asp Gly Glu

[2224] 1 5 10 15

[2225] Leu Asp Gly

[2226] <210> 97

[2227] <211> 16

[2228] <212> PRT

[2229] <213> 人工

[2230] <220>

[2231] <223> 合成序列

[2232] <400> 97

[2233] Lys Thr Val Ala Ala Pro Ser Gly Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

[2234] 1 5 10 15

[2235] <210> 98

[2236] <211> 7

[2237] <212> PRT

[2238] <213> 人工

[2239] <220>

[2240] <223> 合成序列

[2241] <400> 98

[2242] Ala Gly Gly Gly Gly Ser Gly

[2243] 1 5

[2244] <210> 99

[2245] <211> 13

[2246] <212> PRT

[2247] <213> 人工

[2248] <220>

[2249] <223> 合成序列

[2250] <400> 99

[2251] Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly

[2252] 1 5 10

[2253] <210> 100

[2254] <211> 9

[2255] <212> PRT

[2256] <213> 人工

[2257] <220>

[2258] <223> 合成序列

[2259] <400> 100

[2260] Gln Pro Asp Glu Pro Gly Gly Ser Gly

[2261] 1 5

[2262] <210> 101

[2263] <211> 182

[2264] <212> PRT

[2265] <213> 人工

[2266] <220>

[2267] <223> 合成序列

[2268] <400> 101

[2269] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[2270] 1 5 10 15

[2271] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2272] 20 25 30

[2273] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[2274] 35 40 45

[2275] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[2276] 50 55 60

[2277] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[2278] 65 70 75 80

[2279] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[2280] 85 90 95

[2281] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[2282] 100 105 110

[2283] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp

[2284] 115 120 125

[2285] Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro

[2286] 130 135 140

[2287] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp

[2288] 145 150 155 160

[2289] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg

[2290] 165 170 175

[2291] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[2292] 180

[2293] <210> 102

[2294] <211> 173

[2295] <212> PRT

[2296] <213> 人工

[2297] <220>

[2298] <223> 合成序列

[2299] <400> 102

[2300] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2301] 1 5 10 15
[2302] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2303] 20 25 30
[2304] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2305] 35 40 45
[2306] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2307] 50 55 60
[2308] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2309] 65 70 75 80
[2310] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2311] 85 90 95
[2312] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2313] 100 105 110
[2314] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe
[2315] 115 120 125
[2316] Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile
[2317] 130 135 140
[2318] Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met
[2319] 145 150 155 160
[2320] Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[2321] 165 170
[2322] <210> 103
[2323] <211> 182
[2324] <212> PRT
[2325] <213> 人工
[2326] <220>
[2327] <223> 合成序列
[2328] <400> 103
[2329] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2330] 1 5 10 15
[2331] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2332] 20 25 30
[2333] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2334] 35 40 45
[2335] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2336] 50 55 60
[2337] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2338] 65 70 75 80

[2339] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2340] 85 90 95
[2341] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2342] 100 105 110
[2343] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
[2344] 115 120 125
[2345] Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
[2346] 130 135 140
[2347] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[2348] 145 150 155 160
[2349] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg
[2350] 165 170 175
[2351] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[2352] 180
[2353] <210> 104
[2354] <211> 182
[2355] <212> PRT
[2356] <213> 人工
[2357] <220>
[2358] <223> 合成序列
[2359] <400> 104
[2360] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2361] 1 5 10 15
[2362] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2363] 20 25 30
[2364] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2365] 35 40 45
[2366] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2367] 50 55 60
[2368] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2369] 65 70 75 80
[2370] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2371] 85 90 95
[2372] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2373] 100 105 110
[2374] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Lys Lys Ser Pro His Arg Asp
[2375] 115 120 125
[2376] Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
[2377] 130 135 140

[2378] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[2379] 145 150 155 160
[2380] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg
[2381] 165 170 175
[2382] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[2383] 180
[2384] <210> 105
[2385] <211> 180
[2386] <212> PRT
[2387] <213> 人工
[2388] <220>
[2389] <223> 合成序列
[2390] <400> 105
[2391] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2392] 1 5 10 15
[2393] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2394] 20 25 30
[2395] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2396] 35 40 45
[2397] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2398] 50 55 60
[2399] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2400] 65 70 75 80
[2401] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2402] 85 90 95
[2403] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2404] 100 105 110
[2405] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asp Lys Ser Arg Asp Pro Ala
[2406] 115 120 125
[2407] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala
[2408] 130 135 140
[2409] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly
[2410] 145 150 155 160
[2411] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro
[2412] 165 170 175
[2413] Ser Tyr Ala Ser
[2414] 180
[2415] <210> 106
[2416] <211> 180

[2417] <212> PRT
[2418] <213> 人工
[2419] <220>
[2420] <223> 合成序列
[2421] <400> 106
[2422] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2423] 1 5 10 15
[2424] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2425] 20 25 30
[2426] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2427] 35 40 45
[2428] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2429] 50 55 60
[2430] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2431] 65 70 75 80
[2432] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2433] 85 90 95
[2434] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2435] 100 105 110
[2436] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly His Lys Ser Arg Asp Pro Ala
[2437] 115 120 125
[2438] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala
[2439] 130 135 140
[2440] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly
[2441] 145 150 155 160
[2442] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro
[2443] 165 170 175
[2444] Ser Tyr Ala Ser
[2445] 180
[2446] <210> 107
[2447] <211> 182
[2448] <212> PRT
[2449] <213> 人工
[2450] <220>
[2451] <223> 合成序列
[2452] <400> 107
[2453] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2454] 1 5 10 15
[2455] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2456] 20 25 30
[2457] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2458] 35 40 45
[2459] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2460] 50 55 60
[2461] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2462] 65 70 75 80
[2463] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2464] 85 90 95
[2465] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2466] 100 105 110
[2467] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asp Lys Ser Pro His Arg Asp
[2468] 115 120 125
[2469] Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
[2470] 130 135 140
[2471] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[2472] 145 150 155 160
[2473] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg
[2474] 165 170 175
[2475] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[2476] 180
[2477] <210> 108
[2478] <211> 170
[2479] <212> PRT
[2480] <213> 人工
[2481] <220>
[2482] <223> 合成序列
[2483] <400> 108
[2484] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2485] 1 5 10 15
[2486] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2487] 20 25 30
[2488] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2489] 35 40 45
[2490] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2491] 50 55 60
[2492] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2493] 65 70 75 80
[2494] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[2495] 85 90 95

[2496] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[2497] 100 105 110

[2498] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Ala Arg Phe Leu Pro Leu

[2499] 115 120 125

[2500] Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

[2501] 130 135 140

[2502] Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro

[2503] 145 150 155 160

[2504] Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[2505] 165 170

[2506] <210> 109

[2507] <211> 182

[2508] <212> PRT

[2509] <213> 人工

[2510] <220>

[2511] <223> 合成序列

[2512] <400> 109

[2513] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[2514] 1 5 10 15

[2515] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2516] 20 25 30

[2517] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[2518] 35 40 45

[2519] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[2520] 50 55 60

[2521] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[2522] 65 70 75 80

[2523] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[2524] 85 90 95

[2525] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[2526] 100 105 110

[2527] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Gln Lys Ser Pro His Arg Asp

[2528] 115 120 125

[2529] Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro

[2530] 130 135 140

[2531] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp

[2532] 145 150 155 160

[2533] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg

[2534] 165 170 175

[2535] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[2536] 180

[2537] <210> 110

[2538] <211> 172

[2539] <212> PRT

[2540] <213> 人工

[2541] <220>

[2542] <223> 合成序列

[2543] <400> 110

[2544] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[2545] 1 5 10 15

[2546] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2547] 20 25 30

[2548] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[2549] 35 40 45

[2550] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[2551] 50 55 60

[2552] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[2553] 65 70 75 80

[2554] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[2555] 85 90 95

[2556] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[2557] 100 105 110

[2558] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Gly Pro Ala Arg Phe Leu

[2559] 115 120 125

[2560] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu

[2561] 130 135 140

[2562] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val

[2563] 145 150 155 160

[2564] Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[2565] 165 170

[2566] <210> 111

[2567] <211> 179

[2568] <212> PRT

[2569] <213> 人工

[2570] <220>

[2571] <223> 合成序列

[2572] <400> 111

[2573] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2574] 1 5 10 15
[2575] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2576] 20 25 30
[2577] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2578] 35 40 45
[2579] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2580] 50 55 60
[2581] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2582] 65 70 75 80
[2583] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2584] 85 90 95
[2585] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2586] 100 105 110
[2587] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly His Arg Asp Pro Ala Pro
[2588] 115 120 125
[2589] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
[2590] 130 135 140
[2591] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
[2592] 145 150 155 160
[2593] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
[2594] 165 170 175
[2595] Tyr Ala Ser
[2596] <210> 112
[2597] <211> 180
[2598] <212> PRT
[2599] <213> 人工
[2600] <220>
[2601] <223> 合成序列
[2602] <400> 112
[2603] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2604] 1 5 10 15
[2605] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2606] 20 25 30
[2607] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2608] 35 40 45
[2609] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2610] 50 55 60
[2611] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[2612] 65 70 75 80
[2613] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2614] 85 90 95
[2615] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2616] 100 105 110
[2617] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro His His Ser Gly Arg Asp Pro Ala
[2618] 115 120 125
[2619] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala
[2620] 130 135 140
[2621] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly
[2622] 145 150 155 160
[2623] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro
[2624] 165 170 175
[2625] Ser Tyr Ala Ser
[2626] 180
[2627] <210> 113
[2628] <211> 180
[2629] <212> PRT
[2630] <213> 人工
[2631] <220>
[2632] <223> 合成序列
[2633] <400> 113
[2634] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2635] 1 5 10 15
[2636] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2637] 20 25 30
[2638] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2639] 35 40 45
[2640] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2641] 50 55 60
[2642] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2643] 65 70 75 80
[2644] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2645] 85 90 95
[2646] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2647] 100 105 110
[2648] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Lys Asp Ser Gln Asp Pro Ala
[2649] 115 120 125
[2650] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala

[2651] 130 135 140

[2652] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly

[2653] 145 150 155 160

[2654] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro

[2655] 165 170 175

[2656] Ser Tyr Ala Ser

[2657] 180

[2658] <210> 114

[2659] <211> 181

[2660] <212> PRT

[2661] <213> 人工

[2662] <220>

[2663] <223> 合成序列

[2664] <400> 114

[2665] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[2666] 1 5 10 15

[2667] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2668] 20 25 30

[2669] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[2670] 35 40 45

[2671] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[2672] 50 55 60

[2673] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[2674] 65 70 75 80

[2675] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[2676] 85 90 95

[2677] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[2678] 100 105 110

[2679] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly His His Lys Ser Arg Asp Pro

[2680] 115 120 125

[2681] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro

[2682] 130 135 140

[2683] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val

[2684] 145 150 155 160

[2685] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser

[2686] 165 170 175

[2687] Pro Ser Tyr Ala Ser

[2688] 180

[2689] <210> 115

[2690] <211> 181
[2691] <212> PRT
[2692] <213> 人工
[2693] <220>
[2694] <223> 合成序列
[2695] <400> 115
[2696] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2697] 1 5 10 15
[2698] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2699] 20 25 30
[2700] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2701] 35 40 45
[2702] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2703] 50 55 60
[2704] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2705] 65 70 75 80
[2706] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2707] 85 90 95
[2708] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2709] 100 105 110
[2710] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly His His Lys Ser Arg Asp Pro
[2711] 115 120 125
[2712] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[2713] 130 135 140
[2714] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[2715] 145 150 155 160
[2716] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Glu
[2717] 165 170 175
[2718] Pro Ser Tyr Ala Ser
[2719] 180
[2720] <210> 116
[2721] <211> 180
[2722] <212> PRT
[2723] <213> 人工
[2724] <220>
[2725] <223> 合成序列
[2726] <400> 116
[2727] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2728] 1 5 10 15

[2729] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2730] 20 25 30
[2731] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2732] 35 40 45
[2733] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2734] 50 55 60
[2735] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2736] 65 70 75 80
[2737] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2738] 85 90 95
[2739] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2740] 100 105 110
[2741] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly His His Lys Ser Arg Asp Pro
[2742] 115 120 125
[2743] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[2744] 130 135 140
[2745] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[2746] 145 150 155 160
[2747] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro
[2748] 165 170 175
[2749] Ser Tyr Ala Ser
[2750] 180
[2751] <210> 117
[2752] <211> 180
[2753] <212> PRT
[2754] <213> 人工
[2755] <220>
[2756] <223> 合成序列
[2757] <400> 117
[2758] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2759] 1 5 10 15
[2760] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2761] 20 25 30
[2762] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2763] 35 40 45
[2764] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2765] 50 55 60
[2766] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2767] 65 70 75 80

[2768] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2769] 85 90 95
[2770] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2771] 100 105 110
[2772] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly His His Lys Ser Arg Asp Pro
[2773] 115 120 125
[2774] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[2775] 130 135 140
[2776] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[2777] 145 150 155 160
[2778] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Ser Gln Gly Arg Ser Pro
[2779] 165 170 175
[2780] Ser Tyr Ala Ser
[2781] 180
[2782] <210> 118
[2783] <211> 172
[2784] <212> PRT
[2785] <213> 人工
[2786] <220>
[2787] <223> 合成序列
[2788] <400> 118
[2789] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2790] 1 5 10 15
[2791] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2792] 20 25 30
[2793] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2794] 35 40 45
[2795] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2796] 50 55 60
[2797] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2798] 65 70 75 80
[2799] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2800] 85 90 95
[2801] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2802] 100 105 110
[2803] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
[2804] 115 120 125
[2805] Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
[2806] 130 135 140

[2807] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[2808] 145 150 155 160
[2809] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro
[2810] 165 170
[2811] <210> 119
[2812] <211> 180
[2813] <212> PRT
[2814] <213> 人工
[2815] <220>
[2816] <223> 合成序列
[2817] <400> 119
[2818] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2819] 1 5 10 15
[2820] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2821] 20 25 30
[2822] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2823] 35 40 45
[2824] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2825] 50 55 60
[2826] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2827] 65 70 75 80
[2828] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2829] 85 90 95
[2830] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2831] 100 105 110
[2832] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Pro His Arg Asp Pro Ala
[2833] 115 120 125
[2834] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala
[2835] 130 135 140
[2836] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly
[2837] 145 150 155 160
[2838] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro
[2839] 165 170 175
[2840] Ser Tyr Ala Ser
[2841] 180
[2842] <210> 120
[2843] <211> 178
[2844] <212> PRT
[2845] <213> 人工

[2846] <220>

[2847] <223> 合成序列

[2848] <400> 120

[2849] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[2850] 1 5 10 15

[2851] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2852] 20 25 30

[2853] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[2854] 35 40 45

[2855] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[2856] 50 55 60

[2857] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[2858] 65 70 75 80

[2859] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[2860] 85 90 95

[2861] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[2862] 100 105 110

[2863] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Gly His Arg Asp Pro Ala Pro Arg

[2864] 115 120 125

[2865] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro

[2866] 130 135 140

[2867] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser

[2868] 145 150 155 160

[2869] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr

[2870] 165 170 175

[2871] Ala Ser

[2872] <210> 121

[2873] <211> 178

[2874] <212> PRT

[2875] <213> 人工

[2876] <220>

[2877] <223> 合成序列

[2878] <400> 121

[2879] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[2880] 1 5 10 15

[2881] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2882] 20 25 30

[2883] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[2884] 35 40 45

[2885] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2886] 50 55 60
[2887] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2888] 65 70 75 80
[2889] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2890] 85 90 95
[2891] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2892] 100 105 110
[2893] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Asp Pro Ala Pro Arg
[2894] 115 120 125
[2895] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro
[2896] 130 135 140
[2897] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser
[2898] 145 150 155 160
[2899] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr
[2900] 165 170 175
[2901] Ala Ser
[2902] <210> 122
[2903] <211> 176
[2904] <212> PRT
[2905] <213> 人工
[2906] <220>
[2907] <223> 合成序列
[2908] <400> 122
[2909] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2910] 1 5 10 15
[2911] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2912] 20 25 30
[2913] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2914] 35 40 45
[2915] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2916] 50 55 60
[2917] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2918] 65 70 75 80
[2919] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2920] 85 90 95
[2921] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2922] 100 105 110
[2923] His Gly Leu Pro Leu His Leu Ser Gly Gly Pro Ala Pro Arg Gly Pro

[2924] 115 120 125
[2925] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro
[2926] 130 135 140
[2927] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro
[2928] 145 150 155 160
[2929] Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[2930] 165 170 175
[2931] <210> 123
[2932] <211> 171
[2933] <212> PRT
[2934] <213> 人工
[2935] <220>
[2936] <223> 合成序列
[2937] <400> 123
[2938] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[2939] 1 5 10 15
[2940] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[2941] 20 25 30
[2942] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[2943] 35 40 45
[2944] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[2945] 50 55 60
[2946] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[2947] 65 70 75 80
[2948] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[2949] 85 90 95
[2950] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[2951] 100 105 110
[2952] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Gly Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro
[2953] 115 120 125
[2954] Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala
[2955] 130 135 140
[2956] Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu
[2957] 145 150 155 160
[2958] Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[2959] 165 170
[2960] <210> 124
[2961] <211> 169
[2962] <212> PRT

[2963] <213> 人工

[2964] <220>

[2965] <223> 合成序列

[2966] <400> 124

[2967] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[2968] 1 5 10 15

[2969] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2970] 20 25 30

[2971] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[2972] 35 40 45

[2973] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[2974] 50 55 60

[2975] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[2976] 65 70 75 80

[2977] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[2978] 85 90 95

[2979] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[2980] 100 105 110

[2981] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Gly Arg Phe Leu Pro Leu Pro

[2982] 115 120 125

[2983] Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln

[2984] 130 135 140

[2985] Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser

[2986] 145 150 155 160

[2987] Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[2988] 165

[2989] <210> 125

[2990] <211> 170

[2991] <212> PRT

[2992] <213> 人工

[2993] <220>

[2994] <223> 合成序列

[2995] <400> 125

[2996] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[2997] 1 5 10 15

[2998] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[2999] 20 25 30

[3000] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3001] 35 40 45

[3002] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3003] 50 55 60
[3004] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3005] 65 70 75 80
[3006] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3007] 85 90 95
[3008] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[3009] 100 105 110
[3010] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Ser Gly Gly Arg Phe Leu Pro Leu
[3011] 115 120 125
[3012] Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
[3013] 130 135 140
[3014] Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro
[3015] 145 150 155 160
[3016] Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[3017] 165 170
[3018] <210> 126
[3019] <211> 175
[3020] <212> PRT
[3021] <213> 人工
[3022] <220>
[3023] <223> 合成序列
[3024] <400> 126
[3025] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3026] 1 5 10 15
[3027] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3028] 20 25 30
[3029] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3030] 35 40 45
[3031] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3032] 50 55 60
[3033] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3034] 65 70 75 80
[3035] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3036] 85 90 95
[3037] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[3038] 100 105 110
[3039] His Gly Leu Pro Leu His Ser Gly Gly Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala
[3040] 115 120 125

[3041] Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro
[3042] 130 135 140
[3043] Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu
[3044] 145 150 155 160
[3045] Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[3046] 165 170 175
[3047] <210> 127
[3048] <211> 171
[3049] <212> PRT
[3050] <213> 人工
[3051] <220>
[3052] <223> 合成序列
[3053] <400> 127
[3054] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3055] 1 5 10 15
[3056] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3057] 20 25 30
[3058] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3059] 35 40 45
[3060] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3061] 50 55 60
[3062] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3063] 65 70 75 80
[3064] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3065] 85 90 95
[3066] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[3067] 100 105 110
[3068] His Gly Leu Pro Leu His Gly Ser Gly Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro
[3069] 115 120 125
[3070] Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala
[3071] 130 135 140
[3072] Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu
[3073] 145 150 155 160
[3074] Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[3075] 165 170
[3076] <210> 128
[3077] <211> 166
[3078] <212> PRT
[3079] <213> 人工

[3080] <220>

[3081] <223> 合成序列

[3082] <400> 128

[3083] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3084] 1 5 10 15

[3085] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[3086] 20 25 30

[3087] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3088] 35 40 45

[3089] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3090] 50 55 60

[3091] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3092] 65 70 75 80

[3093] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3094] 85 90 95

[3095] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[3096] 100 105 110

[3097] His Gly Leu Pro His Gly Gly Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro

[3098] 115 120 125

[3099] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp

[3100] 130 135 140

[3101] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg

[3102] 145 150 155 160

[3103] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[3104] 165

[3105] <210> 129

[3106] <211> 167

[3107] <212> PRT

[3108] <213> 人工

[3109] <220>

[3110] <223> 合成序列

[3111] <400> 129

[3112] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3113] 1 5 10 15

[3114] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[3115] 20 25 30

[3116] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3117] 35 40 45

[3118] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3119] 50 55 60

[3120] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3121] 65 70 75 80

[3122] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3123] 85 90 95

[3124] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[3125] 100 105 110

[3126] His Gly Leu Pro His Ser Gly Gly Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu

[3127] 115 120 125

[3128] Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro

[3129] 130 135 140

[3130] Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly

[3131] 145 150 155 160

[3132] Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[3133] 165

[3134] <210> 130

[3135] <211> 167

[3136] <212> PRT

[3137] <213> 人工

[3138] <220>

[3139] <223> 合成序列

[3140] <400> 130

[3141] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3142] 1 5 10 15

[3143] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[3144] 20 25 30

[3145] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3146] 35 40 45

[3147] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3148] 50 55 60

[3149] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3150] 65 70 75 80

[3151] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3152] 85 90 95

[3153] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[3154] 100 105 110

[3155] His Gly Leu Pro His Gly Ser Gly Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu

[3156] 115 120 125

[3157] Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro

[3158] 130 135 140

[3159] Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly

[3160] 145 150 155 160

[3161] Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[3162] 165

[3163] <210> 131

[3164] <211> 172

[3165] <212> PRT

[3166] <213> 人工

[3167] <220>

[3168] <223> 合成序列

[3169] <400> 131

[3170] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3171] 1 5 10 15

[3172] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[3173] 20 25 30

[3174] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3175] 35 40 45

[3176] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3177] 50 55 60

[3178] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3179] 65 70 75 80

[3180] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3181] 85 90 95

[3182] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[3183] 100 105 110

[3184] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Gly Pro Ala Arg Phe Leu

[3185] 115 120 125

[3186] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu

[3187] 130 135 140

[3188] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val

[3189] 145 150 155 160

[3190] Thr Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[3191] 165 170

[3192] <210> 132

[3193] <211> 187

[3194] <212> PRT

[3195] <213> 人工

[3196] <220>

[3197] <223> 合成序列

[3198] <400> 132

[3199] Met His His His His His His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu

[3200] 1 5 10 15

[3201] Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala

[3202] 20 25 30

[3203] Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly

[3204] 35 40 45

[3205] Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu

[3206] 50 55 60

[3207] Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu

[3208] 65 70 75 80

[3209] Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro

[3210] 85 90 95

[3211] Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val

[3212] 100 105 110

[3213] Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys

[3214] 115 120 125

[3215] Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro

[3216] 130 135 140

[3217] Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Leu Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala

[3218] 145 150 155 160

[3219] Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly

[3220] 165 170 175

[3221] Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[3222] 180 185

[3223] <210> 133

[3224] <400> 133

[3225] 000

[3226] <210> 134

[3227] <400> 134

[3228] 000

[3229] <210> 135

[3230] <400> 135

[3231] 000

[3232] <210> 136

[3233] <400> 136

[3234] 000

[3235] <210> 137

[3236] <400> 137

[3237] 000

[3238] <210> 138

[3239] <400> 138

[3240] 000

[3241] <210> 139

[3242] <400> 139

[3243] 000

[3244] <210> 140

[3245] <400> 140

[3246] 000

[3247] <210> 141

[3248] <400> 141

[3249] 000

[3250] <210> 142

[3251] <400> 142

[3252] 000

[3253] <210> 143

[3254] <400> 143

[3255] 000

[3256] <210> 144

[3257] <400> 144

[3258] 000

[3259] <210> 145

[3260] <400> 145

[3261] 000

[3262] <210> 146

[3263] <400> 146

[3264] 000

[3265] <210> 147

[3266] <400> 147

[3267] 000

[3268] <210> 148

[3269] <400> 148

[3270] 000

[3271] <210> 149

[3272] <400> 149

[3273] 000

[3274] <210> 150

[3275] <400> 150

[3276] 000

[3277] <210> 151

[3278] <400> 151

[3279] 000

[3280] <210> 152

[3281] <400> 152

[3282] 000

[3283] <210> 153

[3284] <400> 153

[3285] 000

[3286] <210> 154

[3287] <400> 154

[3288] 000

[3289] <210> 155

[3290] <400> 155

[3291] 000

[3292] <210> 156

[3293] <400> 156

[3294] 000

[3295] <210> 157

[3296] <400> 157

[3297] 000

[3298] <210> 158

[3299] <400> 158

[3300] 000

[3301] <210> 159

[3302] <400> 159

[3303] 000

[3304] <210> 160

[3305] <400> 160

[3306] 000

[3307] <210> 161

[3308] <400> 161

[3309] 000

[3310] <210> 162

[3311] <400> 162

[3312] 000

[3313] <210> 163

[3314] <400> 163

[3315] 000

[3316] <210> 164

[3317] <400> 164

[3318] 000

[3319] <210> 165

[3320] <400> 165

[3321] 000

[3322] <210> 166

[3323] <400> 166

[3324] 000

[3325] <210> 167

[3326] <400> 167

[3327] 000

[3328] <210> 168

[3329] <400> 168

[3330] 000

[3331] <210> 169

[3332] <400> 169

[3333] 000

[3334] <210> 170

[3335] <400> 170

[3336] 000

[3337] <210> 171

[3338] <400> 171

[3339] 000

[3340] <210> 172

[3341] <400> 172

[3342] 000

[3343] <210> 173

[3344] <400> 173

[3345] 000

[3346] <210> 174

[3347] <400> 174

[3348] 000

[3349] <210> 175

[3350] <400> 175

[3351] 000

[3352] <210> 176

[3353] <400> 176

[3354] 000

[3355] <210> 177

[3356] <400> 177

[3357] 000

[3358] <210> 178

[3359] <400> 178

[3360] 000

[3361] <210> 179

[3362] <400> 179

[3363] 000

[3364] <210> 180

[3365] <400> 180

[3366] 000

[3367] <210> 181

[3368] <400> 181

[3369] 000

[3370] <210> 182

[3371] <400> 182

[3372] 000

[3373] <210> 183

[3374] <400> 183

[3375] 000

[3376] <210> 184

[3377] <400> 184

[3378] 000

[3379] <210> 185

[3380] <400> 185

[3381] 000

[3382] <210> 186

[3383] <400> 186

[3384] 000

[3385] <210> 187

[3386] <400> 187

[3387] 000

[3388] <210> 188

[3389] <400> 188

[3390] 000

[3391] <210> 189

[3392] <400> 189

[3393] 000

[3394] <210> 190

[3395] <400> 190

[3396] 000

[3397] <210> 191

[3398] <400> 191

[3399] 000

[3400] <210> 192

[3401] <400> 192

[3402] 000

[3403] <210> 193

[3404] <400> 193

[3405] 000

[3406] <210> 194

[3407] <400> 194

[3408] 000

[3409] <210> 195

[3410] <400> 195

[3411] 000

[3412] <210> 196

[3413] <400> 196

[3414] 000

[3415] <210> 197

[3416] <400> 197

[3417] 000

[3418] <210> 198

[3419] <400> 198

[3420] 000

[3421] <210> 199

[3422] <400> 199

[3423] 000

[3424] <210> 200

[3425] <400> 200

[3426] 000

[3427] <210> 201

[3428] <211> 182

[3429] <212> PRT

[3430] <213> 人工

[3431] <220>
[3432] <223> 合成序列
[3433] <220>
[3434] <221> misc_feature
[3435] <222> (109)..(109)
[3436] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)
[3437] <400> 201
[3438] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3439] 1 5 10 15
[3440] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3441] 20 25 30
[3442] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3443] 35 40 45
[3444] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3445] 50 55 60
[3446] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3447] 65 70 75 80
[3448] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3449] 85 90 95
[3450] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
[3451] 100 105 110
[3452] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
[3453] 115 120 125
[3454] Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
[3455] 130 135 140
[3456] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[3457] 145 150 155 160
[3458] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
[3459] 165 170 175
[3460] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[3461] 180
[3462] <210> 202
[3463] <211> 173
[3464] <212> PRT
[3465] <213> 人工
[3466] <220>
[3467] <223> 合成序列
[3468] <220>
[3469] <221> misc_feature

[3470] <222> (109)..(109)

[3471] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)

[3472] <400> 202

[3473] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3474] 1 5 10 15

[3475] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[3476] 20 25 30

[3477] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3478] 35 40 45

[3479] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3480] 50 55 60

[3481] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3482] 65 70 75 80

[3483] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3484] 85 90 95

[3485] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala

[3486] 100 105 110

[3487] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe

[3488] 115 120 125

[3489] Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile

[3490] 130 135 140

[3491] Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met

[3492] 145 150 155 160

[3493] Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[3494] 165 170

[3495] <210> 203

[3496] <400> 203

[3497] 000

[3498] <210> 204

[3499] <400> 204

[3500] 000

[3501] <210> 205

[3502] <211> 180

[3503] <212> PRT

[3504] <213> 人工

[3505] <220>

[3506] <223> 合成序列

[3507] <220>

[3508] <221> misc_feature

[3509] <222> (109)..(109)
[3510] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)
[3511] <400> 205
[3512] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3513] 1 5 10 15
[3514] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3515] 20 25 30
[3516] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3517] 35 40 45
[3518] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3519] 50 55 60
[3520] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3521] 65 70 75 80
[3522] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3523] 85 90 95
[3524] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
[3525] 100 105 110
[3526] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asp Lys Ser Arg Asp Pro Ala
[3527] 115 120 125
[3528] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala
[3529] 130 135 140
[3530] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly
[3531] 145 150 155 160
[3532] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro
[3533] 165 170 175
[3534] Ser Tyr Ala Ser
[3535] 180
[3536] <210> 206
[3537] <211> 180
[3538] <212> PRT
[3539] <213> 人工
[3540] <220>
[3541] <223> 合成序列
[3542] <220>
[3543] <221> misc_feature
[3544] <222> (109)..(109)
[3545] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)
[3546] <400> 206
[3547] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3548] 1 5 10 15

[3549] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[3550] 20 25 30

[3551] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3552] 35 40 45

[3553] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3554] 50 55 60

[3555] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3556] 65 70 75 80

[3557] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3558] 85 90 95

[3559] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala

[3560] 100 105 110

[3561] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly His Lys Ser Arg Asp Pro Ala

[3562] 115 120 125

[3563] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala

[3564] 130 135 140

[3565] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly

[3566] 145 150 155 160

[3567] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro

[3568] 165 170 175

[3569] Ser Tyr Ala Ser

[3570] 180

[3571] <210> 207

[3572] <400> 207

[3573] 000

[3574] <210> 208

[3575] <400> 208

[3576] 000

[3577] <210> 209

[3578] <400> 209

[3579] 000

[3580] <210> 210

[3581] <211> 172

[3582] <212> PRT

[3583] <213> 人工

[3584] <220>

[3585] <223> 合成序列

[3586] <220>

[3587] <221> misc_feature
[3588] <222> (109)..(109)
[3589] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)
[3590] <400> 210
[3591] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3592] 1 5 10 15
[3593] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3594] 20 25 30
[3595] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3596] 35 40 45
[3597] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3598] 50 55 60
[3599] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3600] 65 70 75 80
[3601] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3602] 85 90 95
[3603] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
[3604] 100 105 110
[3605] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[3606] 115 120 125
[3607] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[3608] 130 135 140
[3609] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[3610] 145 150 155 160
[3611] Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[3612] 165 170
[3613] <210> 211
[3614] <211> 179
[3615] <212> PRT
[3616] <213> 人工
[3617] <220>
[3618] <223> 合成序列
[3619] <220>
[3620] <221> misc_feature
[3621] <222> (109)..(109)
[3622] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)
[3623] <400> 211
[3624] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3625] 1 5 10 15

[3626] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3627] 20 25 30
[3628] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3629] 35 40 45
[3630] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3631] 50 55 60
[3632] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3633] 65 70 75 80
[3634] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3635] 85 90 95
[3636] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
[3637] 100 105 110
[3638] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly His Arg Asp Pro Ala Pro
[3639] 115 120 125
[3640] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
[3641] 130 135 140
[3642] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
[3643] 145 150 155 160
[3644] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
[3645] 165 170 175
[3646] Tyr Ala Ser
[3647] <210> 212
[3648] <211> 180
[3649] <212> PRT
[3650] <213> 人工
[3651] <220>
[3652] <223> 合成序列
[3653] <220>
[3654] <221> misc_feature
[3655] <222> (109)..(109)
[3656] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)
[3657] <400> 212
[3658] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3659] 1 5 10 15
[3660] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3661] 20 25 30
[3662] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3663] 35 40 45
[3664] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3665] 50 55 60

[3666] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3667] 65 70 75 80

[3668] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3669] 85 90 95

[3670] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala

[3671] 100 105 110

[3672] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro His His Ser Gly Arg Asp Pro Ala

[3673] 115 120 125

[3674] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala

[3675] 130 135 140

[3676] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly

[3677] 145 150 155 160

[3678] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro

[3679] 165 170 175

[3680] Ser Tyr Ala Ser

[3681] 180

[3682] <210> 213

[3683] <400> 213

[3684] 000

[3685] <210> 214

[3686] <400> 214

[3687] 000

[3688] <210> 215

[3689] <400> 215

[3690] 000

[3691] <210> 216

[3692] <400> 216

[3693] 000

[3694] <210> 217

[3695] <400> 217

[3696] 000

[3697] <210> 218

[3698] <400> 218

[3699] 000

[3700] <210> 219

[3701] <211> 180

[3702] <212> PRT

[3703] <213> 人工

[3704] <220>
[3705] <223> 合成序列
[3706] <220>
[3707] <221> misc_feature
[3708] <222> (109)..(109)
[3709] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)
[3710] <400> 219
[3711] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3712] 1 5 10 15
[3713] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3714] 20 25 30
[3715] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3716] 35 40 45
[3717] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3718] 50 55 60
[3719] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3720] 65 70 75 80
[3721] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3722] 85 90 95
[3723] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
[3724] 100 105 110
[3725] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Pro His Arg Asp Pro Ala
[3726] 115 120 125
[3727] Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala
[3728] 130 135 140
[3729] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly
[3730] 145 150 155 160
[3731] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro
[3732] 165 170 175
[3733] Ser Tyr Ala Ser
[3734] 180
[3735] <210> 220
[3736] <211> 178
[3737] <212> PRT
[3738] <213> 人工
[3739] <220>
[3740] <223> 合成序列
[3741] <220>
[3742] <221> misc_feature

[3743] <222> (109)..(109)

[3744] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)

[3745] <400> 220

[3746] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3747] 1 5 10 15

[3748] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[3749] 20 25 30

[3750] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3751] 35 40 45

[3752] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3753] 50 55 60

[3754] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3755] 65 70 75 80

[3756] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3757] 85 90 95

[3758] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala

[3759] 100 105 110

[3760] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Gly His Arg Asp Pro Ala Pro Arg

[3761] 115 120 125

[3762] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro

[3763] 130 135 140

[3764] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser

[3765] 145 150 155 160

[3766] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr

[3767] 165 170 175

[3768] Ala Ser

[3769] <210> 221

[3770] <211> 178

[3771] <212> PRT

[3772] <213> 人工

[3773] <220>

[3774] <223> 合成序列

[3775] <220>

[3776] <221> misc_feature

[3777] <222> (109)..(109)

[3778] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)

[3779] <400> 221

[3780] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3781] 1 5 10 15

[3782] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3783] 20 25 30
[3784] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3785] 35 40 45
[3786] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[3787] 50 55 60
[3788] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[3789] 65 70 75 80
[3790] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[3791] 85 90 95
[3792] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala
[3793] 100 105 110
[3794] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Asp Pro Ala Pro Arg
[3795] 115 120 125
[3796] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro
[3797] 130 135 140
[3798] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser
[3799] 145 150 155 160
[3800] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr
[3801] 165 170 175
[3802] Ala Ser
[3803] <210> 222
[3804] <211> 176
[3805] <212> PRT
[3806] <213> 人工
[3807] <220>
[3808] <223> 合成序列
[3809] <220>
[3810] <221> misc_feature
[3811] <222> (109)..(109)
[3812] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)
[3813] <400> 222
[3814] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[3815] 1 5 10 15
[3816] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[3817] 20 25 30
[3818] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[3819] 35 40 45
[3820] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3821] 50 55 60

[3822] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3823] 65 70 75 80

[3824] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3825] 85 90 95

[3826] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala

[3827] 100 105 110

[3828] His Gly Leu Pro Leu His Leu Ser Gly Gly Pro Ala Pro Arg Gly Pro

[3829] 115 120 125

[3830] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro

[3831] 130 135 140

[3832] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro

[3833] 145 150 155 160

[3834] Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[3835] 165 170 175

[3836] <210> 223

[3837] <211> 171

[3838] <212> PRT

[3839] <213> 人工

[3840] <220>

[3841] <223> 合成序列

[3842] <220>

[3843] <221> misc_feature

[3844] <222> (109)..(109)

[3845] <223> 对-乙酰基-L-苯丙氨酸,其任选连接至30 kDa聚(乙二醇)

[3846] <400> 223

[3847] Met His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[3848] 1 5 10 15

[3849] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[3850] 20 25 30

[3851] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[3852] 35 40 45

[3853] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[3854] 50 55 60

[3855] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[3856] 65 70 75 80

[3857] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[3858] 85 90 95

[3859] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Xaa Ser Glu Ala

[3860] 100 105 110

[3861] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Gly Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro

[3862] 115 120 125

[3863] Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala

[3864] 130 135 140

[3865] Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu

[3866] 145 150 155 160

[3867] Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[3868] 165 170

[3869] <210> 224

[3870] <400> 224

[3871] 000

[3872] <210> 225

[3873] <400> 225

[3874] 000

[3875] <210> 226

[3876] <400> 226

[3877] 000

[3878] <210> 227

[3879] <400> 227

[3880] 000

[3881] <210> 228

[3882] <400> 228

[3883] 000

[3884] <210> 229

[3885] <400> 229

[3886] 000

[3887] <210> 230

[3888] <400> 230

[3889] 000

[3890] <210> 231

[3891] <400> 231

[3892] 000

[3893] <210> 232

[3894] <400> 232

[3895] 000

[3896] <210> 233

[3897] <400> 233

[3898] 000

[3899] <210> 234

[3900] <400> 234

[3901] 000

[3902] <210> 235

[3903] <400> 235

[3904] 000

[3905] <210> 236

[3906] <400> 236

[3907] 000

[3908] <210> 237

[3909] <400> 237

[3910] 000

[3911] <210> 238

[3912] <400> 238

[3913] 000

[3914] <210> 239

[3915] <400> 239

[3916] 000

[3917] <210> 240

[3918] <400> 240

[3919] 000

[3920] <210> 241

[3921] <400> 241

[3922] 000

[3923] <210> 242

[3924] <400> 242

[3925] 000

[3926] <210> 243

[3927] <400> 243

[3928] 000

[3929] <210> 244

[3930] <400> 244

[3931] 000

[3932] <210> 245

[3933] <400> 245

[3934] 000

[3935] <210> 246

[3936] <400> 246

[3937] 000

[3938] <210> 247

[3939] <400> 247

[3940] 000

[3941] <210> 248

[3942] <400> 248

[3943] 000

[3944] <210> 249

[3945] <400> 249

[3946] 000

[3947] <210> 250

[3948] <400> 250

[3949] 000

[3950] <210> 251

[3951] <400> 251

[3952] 000

[3953] <210> 252

[3954] <400> 252

[3955] 000

[3956] <210> 253

[3957] <400> 253

[3958] 000

[3959] <210> 254

[3960] <400> 254

[3961] 000

[3962] <210> 255

[3963] <400> 255

[3964] 000

[3965] <210> 256

[3966] <400> 256

[3967] 000

[3968] <210> 257

[3969] <400> 257

[3970] 000

[3971] <210> 258

[3972] <400> 258

[3973] 000

[3974] <210> 259

[3975] <400> 259

[3976] 000

[3977] <210> 260

[3978] <400> 260

[3979] 000

[3980] <210> 261

[3981] <400> 261

[3982] 000

[3983] <210> 262

[3984] <400> 262

[3985] 000

[3986] <210> 263

[3987] <400> 263

[3988] 000

[3989] <210> 264

[3990] <400> 264

[3991] 000

[3992] <210> 265

[3993] <400> 265

[3994] 000

[3995] <210> 266

[3996] <400> 266

[3997] 000

[3998] <210> 267

[3999] <400> 267

[4000] 000

[4001] <210> 268

[4002] <400> 268

[4003] 000

[4004] <210> 269

[4005] <400> 269

[4006] 000

[4007] <210> 270

[4008] <400> 270

[4009] 000

[4010] <210> 271

[4011] <400> 271

[4012] 000

[4013] <210> 272

[4014] <400> 272

[4015] 000

[4016] <210> 273

[4017] <400> 273

[4018] 000

[4019] <210> 274

[4020] <400> 274

[4021] 000

[4022] <210> 275

[4023] <400> 275

[4024] 000

[4025] <210> 276

[4026] <400> 276

[4027] 000

[4028] <210> 277

[4029] <400> 277

[4030] 000

[4031] <210> 278

[4032] <400> 278

[4033] 000

[4034] <210> 279

[4035] <400> 279

[4036] 000

[4037] <210> 280

[4038] <400> 280

[4039] 000

[4040] <210> 281

[4041] <400> 281

[4042] 000

[4043] <210> 282

[4044] <400> 282

[4045] 000

[4046] <210> 283

[4047] <400> 283

[4048] 000

[4049] <210> 284

[4050] <400> 284

[4051] 000

[4052] <210> 285

[4053] <400> 285

[4054] 000

[4055] <210> 286

[4056] <400> 286

[4057] 000

[4058] <210> 287

[4059] <400> 287

[4060] 000

[4061] <210> 288

[4062] <400> 288

[4063] 000

[4064] <210> 289

[4065] <400> 289

[4066] 000

[4067] <210> 290

[4068] <400> 290

[4069] 000

[4070] <210> 291

[4071] <400> 291

[4072] 000

[4073] <210> 292

[4074] <400> 292

[4075] 000

[4076] <210> 293

[4077] <400> 293

[4078] 000

[4079] <210> 294

[4080] <400> 294

[4081] 000

[4082] <210> 295

[4083] <400> 295

[4084] 000

[4085] <210> 296

[4086] <400> 296

[4087] 000

[4088] <210> 297

[4089] <400> 297

[4090] 000

[4091] <210> 298

[4092] <400> 298

[4093] 000

[4094] <210> 299
[4095] <400> 299
[4096] 000
[4097] <210> 300
[4098] <400> 300
[4099] 000
[4100] <210> 301
[4101] <211> 7
[4102] <212> PRT
[4103] <213> 人工
[4104] <220>
[4105] <223> 合成序列
[4106] <400> 301
[4107] Thr Val Ala Ala Pro Ser Gly
[4108] 1 5
[4109] <210> 302
[4110] <211> 227
[4111] <212> PRT
[4112] <213> 人工
[4113] <220>
[4114] <223> 合成序列
[4115] <400> 302
[4116] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[4117] 1 5 10 15
[4118] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[4119] 20 25 30
[4120] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[4121] 35 40 45
[4122] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[4123] 50 55 60
[4124] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[4125] 65 70 75 80
[4126] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[4127] 85 90 95
[4128] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[4129] 100 105 110
[4130] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[4131] 115 120 125
[4132] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[4133] 130 135 140

[4134] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[4135] 145 150 155 160

[4136] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[4137] 165 170 175

[4138] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[4139] 180 185 190

[4140] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[4141] 195 200 205

[4142] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[4143] 210 215 220

[4144] Pro Gly Lys

[4145] 225

[4146] <210> 303

[4147] <211> 16

[4148] <212> PRT

[4149] <213> 人工

[4150] <220>

[4151] <223> 合成序列

[4152] <400> 303

[4153] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[4154] 1 5 10 15

[4155] <210> 304

[4156] <211> 16

[4157] <212> PRT

[4158] <213> 人工

[4159] <220>

[4160] <223> 合成序列

[4161] <400> 304

[4162] Gly Ser Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[4163] 1 5 10 15

[4164] <210> 305

[4165] <211> 24

[4166] <212> PRT

[4167] <213> 人工

[4168] <220>

[4169] <223> 合成序列

[4170] <400> 305

[4171] Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

[4172] 1 5 10 15
[4173] Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
[4174] 20
[4175] <210> 306
[4176] <211> 24
[4177] <212> PRT
[4178] <213> 人工
[4179] <220>
[4180] <223> 合成序列
[4181] <400> 306
[4182] Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
[4183] 1 5 10 15
[4184] Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser
[4185] 20
[4186] <210> 307
[4187] <211> 24
[4188] <212> PRT
[4189] <213> 人工
[4190] <220>
[4191] <223> 合成序列
[4192] <400> 307
[4193] Glu Pro Lys Ser Ser Gly Ser Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
[4194] 1 5 10 15
[4195] Pro Glu Leu Leu Gly Gly Ser Ser
[4196] 20
[4197] <210> 308
[4198] <211> 19
[4199] <212> PRT
[4200] <213> 人工
[4201] <220>
[4202] <223> 合成序列
[4203] <400> 308
[4204] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[4205] 1 5 10 15
[4206] Gly Pro Ser
[4207] <210> 309
[4208] <211> 19
[4209] <212> PRT
[4210] <213> 人工

[4211] <220>
[4212] <223> 合成序列
[4213] <400> 309
[4214] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[4215] 1 5 10 15
[4216] Gly Ser Ser
[4217] <210> 310
[4218] <211> 20
[4219] <212> PRT
[4220] <213> 人工
[4221] <220>
[4222] <223> 合成序列
[4223] <400> 310
[4224] Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ala Pro
[4225] 1 5 10 15
[4226] Ser Ala Pro Ala
[4227] 20
[4228] <210> 311
[4229] <211> 20
[4230] <212> PRT
[4231] <213> 人工
[4232] <220>
[4233] <223> 合成序列
[4234] <400> 311
[4235] Ala Ala Pro Ala Ser Pro Ala Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Ala Pro
[4236] 1 5 10 15
[4237] Ala Ala Pro Ser
[4238] 20
[4239] <210> 312
[4240] <211> 20
[4241] <212> PRT
[4242] <213> 人工
[4243] <220>
[4244] <223> 合成序列
[4245] <400> 312
[4246] Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ala
[4247] 1 5 10 15
[4248] Ser Pro Ser Ser
[4249] 20

[4250] <210> 313
[4251] <211> 20
[4252] <212> PRT
[4253] <213> 人工
[4254] <220>
[4255] <223> 合成序列
[4256] <400> 313
[4257] Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro Ser Ala Pro Ser Ser Pro Ser Pro
[4258] 1 5 10 15
[4259] Ala Ser Pro Ser
[4260] 20
[4261] <210> 314
[4262] <211> 20
[4263] <212> PRT
[4264] <213> 人工
[4265] <220>
[4266] <223> 合成序列
[4267] <400> 314
[4268] Ser Ser Pro Ser Ala Pro Ser Pro Ser Ser Pro Ala Ser Pro Ser Pro
[4269] 1 5 10 15
[4270] Ser Ser Pro Ala
[4271] 20
[4272] <210> 315
[4273] <211> 24
[4274] <212> PRT
[4275] <213> 人工
[4276] <220>
[4277] <223> 合成序列
[4278] <400> 315
[4279] Ala Ala Ser Pro Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala Ala Ala Ser Pro
[4280] 1 5 10 15
[4281] Ala Ala Pro Ser Ala Pro Pro Ala
[4282] 20
[4283] <210> 316
[4284] <211> 20
[4285] <212> PRT
[4286] <213> 人工
[4287] <220>
[4288] <223> 合成序列

[4289] <400> 316

[4290] Ala Ser Ala Ala Ala Pro Ala Ala Ala Ser Ala Ala Ala Ser Ala Pro

[4291] 1 5 10 15

[4292] Ser Ala Ala Ala

[4293] 20

[4294] <210> 317

[4295] <211> 519

[4296] <212> DNA

[4297] <213> 人工

[4298] <220>

[4299] <223> 合成序列

[4300] <400> 317

[4301] atgcatccta ttcctgattc ttctcctctg ctgcaatttg ggggtcaggt gcgccaacgt 60

[4302] tacctgtaca ccgacgatgc gcaacagact gaggctcacc tggagatccg tgaggacggg 120

[4303] actgtcggag gggctgccga tcaatcccca gagtcactgc tgcaactgaa agccctgaag 180

[4304] cctggggtca ttcagatcct gggcgtaaag acgagtcgtt tcctgtgcca acgtcctgac 240

[4305] ggggcactgt atggctcgct gcattttgat cctgaggctt gtagttttcg cgaactgctg 300

[4306] ctggaagatg gttacaatgt gtatcagagt gaagcacacg gtctgcctct gcacctgggt 360

[4307] tctggtcgtg gtccggcgcg ttttctgcca ctgcctggcc tgcctccagc accacctgaa 420

[4308] ccaccgggta ttctggctcc gcaacctcca gacgtcggga gttcagatcc tctgtcgatg 480

[4309] gtagaaccgt cacaaggtcg ctctcctagt tacgcgtca 519

[4310] <210> 318

[4311] <211> 519

[4312] <212> DNA

[4313] <213> 人工

[4314] <220>

[4315] <223> 合成序列

[4316] <400> 318

[4317] atgcatccta ttcctgattc ttctcctctg ctgcaatttg ggggtcaggt gcgccaacgt 60

[4318] tacctgtaca ccgacgatgc gcaacagact gaggctcacc tggagatccg tgaggacggg 120

[4319] actgtcggag gggctgccga tcaatcccca gagtcactgc tgcaactgaa agccctgaag 180

[4320] cctggggtca ttcagatcct gggcgtaaag acgagtcgtt tcctgtgcca acgtcctgac 240

[4321] ggggcactgt atggctcgct gcattttgat cctgaggctt gtagttttcg cgaactgctg 300

[4322] ctggaagatg gttacaatgt gtattagagt gaagcacacg gtctgcctct gcatctgggc 360

[4323] tccggccgcg gtccggcccg ttttctgcca ctgcctggcc tgcctccagc accacctgaa 420

[4324] ccaccgggta ttctggctcc gcaacctcca gacgtcggga gttcagatcc tctgtcgatg 480

[4325] gtagaaccgt cacaaggtcg ctctcctagt tacgcgtca 519

[4326] <210> 319

[4327] <211> 98

[4328] <212> PRT
[4329] <213> 人工
[4330] <220>
[4331] <223> 合成序列
[4332] <400> 319
[4333] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[4334] 1 5 10 15
[4335] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[4336] 20 25 30
[4337] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[4338] 35 40 45
[4339] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[4340] 50 55 60
[4341] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[4342] 65 70 75 80
[4343] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[4344] 85 90 95
[4345] Ser Gln
[4346] <210> 320
[4347] <211> 103
[4348] <212> PRT
[4349] <213> 人工
[4350] <220>
[4351] <223> 合成序列
[4352] <400> 320
[4353] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[4354] 1 5 10 15
[4355] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[4356] 20 25 30
[4357] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[4358] 35 40 45
[4359] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[4360] 50 55 60
[4361] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[4362] 65 70 75 80
[4363] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[4364] 85 90 95
[4365] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro
[4366] 100

[4367] <210> 321
[4368] <211> 585
[4369] <212> PRT
[4370] <213> 人工
[4371] <220>
[4372] <223> 合成序列
[4373] <400> 321
[4374] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[4375] 1 5 10 15
[4376] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[4377] 20 25 30
[4378] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[4379] 35 40 45
[4380] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[4381] 50 55 60
[4382] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[4383] 65 70 75 80
[4384] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[4385] 85 90 95
[4386] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[4387] 100 105 110
[4388] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[4389] 115 120 125
[4390] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[4391] 130 135 140
[4392] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[4393] 145 150 155 160
[4394] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[4395] 165 170 175
[4396] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[4397] 180 185 190
[4398] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[4399] 195 200 205
[4400] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[4401] 210 215 220
[4402] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[4403] 225 230 235 240
[4404] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[4405] 245 250 255

[4406] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[4407] 260 265 270
[4408] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[4409] 275 280 285
[4410] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[4411] 290 295 300
[4412] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[4413] 305 310 315 320
[4414] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[4415] 325 330 335
[4416] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[4417] 340 345 350
[4418] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[4419] 355 360 365
[4420] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[4421] 370 375 380
[4422] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[4423] 385 390 395 400
[4424] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[4425] 405 410 415
[4426] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[4427] 420 425 430
[4428] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[4429] 435 440 445
[4430] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[4431] 450 455 460
[4432] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[4433] 465 470 475 480
[4434] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[4435] 485 490 495
[4436] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[4437] 500 505 510
[4438] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[4439] 515 520 525
[4440] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[4441] 530 535 540
[4442] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[4443] 545 550 555 560
[4444] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

[4445] 565 570 575
[4446] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
[4447] 580 585
[4448] <210> 322
[4449] <211> 584
[4450] <212> PRT
[4451] <213> 人工
[4452] <220>
[4453] <223> 合成序列
[4454] <400> 322
[4455] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[4456] 1 5 10 15
[4457] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[4458] 20 25 30
[4459] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[4460] 35 40 45
[4461] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[4462] 50 55 60
[4463] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[4464] 65 70 75 80
[4465] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[4466] 85 90 95
[4467] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[4468] 100 105 110
[4469] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[4470] 115 120 125
[4471] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[4472] 130 135 140
[4473] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[4474] 145 150 155 160
[4475] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[4476] 165 170 175
[4477] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[4478] 180 185 190
[4479] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[4480] 195 200 205
[4481] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[4482] 210 215 220
[4483] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[4484] 225 230 235 240
[4485] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[4486] 245 250 255
[4487] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[4488] 260 265 270
[4489] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[4490] 275 280 285
[4491] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[4492] 290 295 300
[4493] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[4494] 305 310 315 320
[4495] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[4496] 325 330 335
[4497] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[4498] 340 345 350
[4499] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[4500] 355 360 365
[4501] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[4502] 370 375 380
[4503] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[4504] 385 390 395 400
[4505] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[4506] 405 410 415
[4507] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[4508] 420 425 430
[4509] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[4510] 435 440 445
[4511] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[4512] 450 455 460
[4513] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[4514] 465 470 475 480
[4515] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[4516] 485 490 495
[4517] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[4518] 500 505 510
[4519] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[4520] 515 520 525
[4521] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[4522] 530 535 540

[4523] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[4524] 545 550 555 560
[4525] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[4526] 565 570 575
[4527] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly
[4528] 580
[4529] <210> 323
[4530] <211> 227
[4531] <212> PRT
[4532] <213> 人工
[4533] <220>
[4534] <223> 合成序列
[4535] <400> 323
[4536] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[4537] 1 5 10 15
[4538] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[4539] 20 25 30
[4540] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[4541] 35 40 45
[4542] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[4543] 50 55 60
[4544] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[4545] 65 70 75 80
[4546] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[4547] 85 90 95
[4548] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[4549] 100 105 110
[4550] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[4551] 115 120 125
[4552] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[4553] 130 135 140
[4554] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[4555] 145 150 155 160
[4556] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[4557] 165 170 175
[4558] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[4559] 180 185 190
[4560] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[4561] 195 200 205

[4562] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[4563] 210 215 220
[4564] Pro Gly Lys
[4565] 225
[4566] <210> 324
[4567] <211> 225
[4568] <212> PRT
[4569] <213> 人工
[4570] <220>
[4571] <223> 合成序列
[4572] <400> 324
[4573] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[4574] 1 5 10 15
[4575] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[4576] 20 25 30
[4577] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[4578] 35 40 45
[4579] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[4580] 50 55 60
[4581] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[4582] 65 70 75 80
[4583] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[4584] 85 90 95
[4585] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[4586] 100 105 110
[4587] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[4588] 115 120 125
[4589] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[4590] 130 135 140
[4591] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[4592] 145 150 155 160
[4593] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[4594] 165 170 175
[4595] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[4596] 180 185 190
[4597] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[4598] 195 200 205
[4599] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[4600] 210 215 220

[4601] Pro
[4602] 225
[4603] <210> 325
[4604] <211> 227
[4605] <212> PRT
[4606] <213> 人工
[4607] <220>
[4608] <223> 合成序列
[4609] <400> 325
[4610] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[4611] 1 5 10 15
[4612] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[4613] 20 25 30
[4614] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[4615] 35 40 45
[4616] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[4617] 50 55 60
[4618] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[4619] 65 70 75 80
[4620] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[4621] 85 90 95
[4622] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[4623] 100 105 110
[4624] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[4625] 115 120 125
[4626] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[4627] 130 135 140
[4628] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[4629] 145 150 155 160
[4630] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[4631] 165 170 175
[4632] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[4633] 180 185 190
[4634] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[4635] 195 200 205
[4636] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[4637] 210 215 220
[4638] Pro Gly Lys
[4639] 225

[4640] <210> 326
[4641] <211> 227
[4642] <212> PRT
[4643] <213> 人工
[4644] <220>
[4645] <223> 合成序列
[4646] <400> 326
[4647] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu Gly
[4648] 1 5 10 15
[4649] Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[4650] 20 25 30
[4651] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[4652] 35 40 45
[4653] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[4654] 50 55 60
[4655] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[4656] 65 70 75 80
[4657] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[4658] 85 90 95
[4659] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ser Ser Ile
[4660] 100 105 110
[4661] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[4662] 115 120 125
[4663] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[4664] 130 135 140
[4665] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[4666] 145 150 155 160
[4667] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[4668] 165 170 175
[4669] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[4670] 180 185 190
[4671] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[4672] 195 200 205
[4673] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[4674] 210 215 220
[4675] Pro Gly Lys
[4676] 225
[4677] <210> 327
[4678] <211> 232

[4679] <212> PRT
[4680] <213> 人工
[4681] <220>
[4682] <223> 合成序列
[4683] <400> 327
[4684] Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
[4685] 1 5 10 15
[4686] Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
[4687] 20 25 30
[4688] Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
[4689] 35 40 45
[4690] Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
[4691] 50 55 60
[4692] Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
[4693] 65 70 75 80
[4694] Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
[4695] 85 90 95
[4696] Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
[4697] 100 105 110
[4698] Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
[4699] 115 120 125
[4700] Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr
[4701] 130 135 140
[4702] Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
[4703] 145 150 155 160
[4704] Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
[4705] 165 170 175
[4706] Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
[4707] 180 185 190
[4708] Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
[4709] 195 200 205
[4710] Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
[4711] 210 215 220
[4712] Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[4713] 225 230
[4714] <210> 328
[4715] <211> 227
[4716] <212> PRT
[4717] <213> 人工

[4718] <220>

[4719] <223> 合成序列

[4720] <400> 328

[4721] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[4722] 1 5 10 15

[4723] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

[4724] 20 25 30

[4725] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

[4726] 35 40 45

[4727] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

[4728] 50 55 60

[4729] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gly Ser Thr Tyr

[4730] 65 70 75 80

[4731] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

[4732] 85 90 95

[4733] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

[4734] 100 105 110

[4735] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

[4736] 115 120 125

[4737] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[4738] 130 135 140

[4739] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[4740] 145 150 155 160

[4741] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[4742] 165 170 175

[4743] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[4744] 180 185 190

[4745] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[4746] 195 200 205

[4747] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[4748] 210 215 220

[4749] Pro Gly Lys

[4750] 225

[4751] <210> 329

[4752] <211> 226

[4753] <212> PRT

[4754] <213> 人工

[4755] <220>

[4756] <223> 合成序列

[4757] <400> 329

[4758] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[4759] 1 5 10 15

[4760] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

[4761] 20 25 30

[4762] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

[4763] 35 40 45

[4764] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

[4765] 50 55 60

[4766] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

[4767] 65 70 75 80

[4768] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

[4769] 85 90 95

[4770] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

[4771] 100 105 110

[4772] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

[4773] 115 120 125

[4774] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[4775] 130 135 140

[4776] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[4777] 145 150 155 160

[4778] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[4779] 165 170 175

[4780] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[4781] 180 185 190

[4782] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[4783] 195 200 205

[4784] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[4785] 210 215 220

[4786] Pro Gly

[4787] 225

[4788] <210> 330

[4789] <211> 227

[4790] <212> PRT

[4791] <213> 人工

[4792] <220>

[4793] <223> 合成序列

[4794] <400> 330

[4795] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[4796] 1 5 10 15
[4797] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[4798] 20 25 30
[4799] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[4800] 35 40 45
[4801] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[4802] 50 55 60
[4803] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Gln Ser Thr Tyr
[4804] 65 70 75 80
[4805] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[4806] 85 90 95
[4807] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[4808] 100 105 110
[4809] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[4810] 115 120 125
[4811] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[4812] 130 135 140
[4813] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[4814] 145 150 155 160
[4815] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[4816] 165 170 175
[4817] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[4818] 180 185 190
[4819] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[4820] 195 200 205
[4821] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[4822] 210 215 220
[4823] Pro Gly Lys
[4824] 225
[4825] <210> 331
[4826] <211> 227
[4827] <212> PRT
[4828] <213> 人工
[4829] <220>
[4830] <223> 合成序列
[4831] <400> 331
[4832] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[4833] 1 5 10 15
[4834] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

[4835] 20 25 30

[4836] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

[4837] 35 40 45

[4838] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

[4839] 50 55 60

[4840] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ser Ser Thr Tyr

[4841] 65 70 75 80

[4842] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

[4843] 85 90 95

[4844] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

[4845] 100 105 110

[4846] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

[4847] 115 120 125

[4848] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[4849] 130 135 140

[4850] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[4851] 145 150 155 160

[4852] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[4853] 165 170 175

[4854] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[4855] 180 185 190

[4856] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[4857] 195 200 205

[4858] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[4859] 210 215 220

[4860] Pro Gly Lys

[4861] 225

[4862] <210> 332

[4863] <211> 227

[4864] <212> PRT

[4865] <213> 人工

[4866] <220>

[4867] <223> 合成序列

[4868] <400> 332

[4869] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[4870] 1 5 10 15

[4871] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

[4872] 20 25 30

[4873] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

[4874] 35 40 45

[4875] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

[4876] 50 55 60

[4877] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Ala Ser Thr Tyr

[4878] 65 70 75 80

[4879] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

[4880] 85 90 95

[4881] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

[4882] 100 105 110

[4883] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

[4884] 115 120 125

[4885] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[4886] 130 135 140

[4887] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[4888] 145 150 155 160

[4889] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[4890] 165 170 175

[4891] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[4892] 180 185 190

[4893] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[4894] 195 200 205

[4895] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[4896] 210 215 220

[4897] Pro Gly Lys

[4898] 225

[4899] <210> 333

[4900] <211> 227

[4901] <212> PRT

[4902] <213> 人工

[4903] <220>

[4904] <223> 合成序列

[4905] <400> 333

[4906] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[4907] 1 5 10 15

[4908] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

[4909] 20 25 30

[4910] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

[4911] 35 40 45

[4912] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

[4913] 50 55 60

[4914] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr His Ser Thr Tyr

[4915] 65 70 75 80

[4916] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

[4917] 85 90 95

[4918] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

[4919] 100 105 110

[4920] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

[4921] 115 120 125

[4922] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[4923] 130 135 140

[4924] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[4925] 145 150 155 160

[4926] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[4927] 165 170 175

[4928] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[4929] 180 185 190

[4930] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[4931] 195 200 205

[4932] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[4933] 210 215 220

[4934] Pro Gly Lys

[4935] 225

[4936] <210> 334

[4937] <211> 233

[4938] <212> PRT

[4939] <213> 人工

[4940] <220>

[4941] <223> 合成序列

[4942] <400> 334

[4943] Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro

[4944] 1 5 10 15

[4945] Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys

[4946] 20 25 30

[4947] Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val

[4948] 35 40 45

[4949] Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr

[4950] 50 55 60

[4951] Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu

[4952] 65 70 75 80
[4953] Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His
[4954] 85 90 95
[4955] Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys
[4956] 100 105 110
[4957] Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln
[4958] 115 120 125
[4959] Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met
[4960] 130 135 140
[4961] Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro
[4962] 145 150 155 160
[4963] Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn
[4964] 165 170 175
[4965] Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
[4966] 180 185 190
[4967] Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val
[4968] 195 200 205
[4969] Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln
[4970] 210 215 220
[4971] Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
[4972] 225 230
[4973] <210> 335
[4974] <211> 233
[4975] <212> PRT
[4976] <213> 人工
[4977] <220>
[4978] <223> 合成序列
[4979] <400> 335
[4980] Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro
[4981] 1 5 10 15
[4982] Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys
[4983] 20 25 30
[4984] Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val
[4985] 35 40 45
[4986] Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr
[4987] 50 55 60
[4988] Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu
[4989] 65 70 75 80
[4990] Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His

[4991] 85 90 95

[4992] Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys

[4993] 100 105 110

[4994] Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln

[4995] 115 120 125

[4996] Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met

[4997] 130 135 140

[4998] Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro

[4999] 145 150 155 160

[5000] Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn

[5001] 165 170 175

[5002] Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu

[5003] 180 185 190

[5004] Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val

[5005] 195 200 205

[5006] Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln

[5007] 210 215 220

[5008] Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

[5009] 225 230

[5010] <210> 336

[5011] <400> 336

[5012] 000

[5013] <210> 337

[5014] <400> 337

[5015] 000

[5016] <210> 338

[5017] <400> 338

[5018] 000

[5019] <210> 339

[5020] <400> 339

[5021] 000

[5022] <210> 340

[5023] <400> 340

[5024] 000

[5025] <210> 341

[5026] <400> 341

[5027] 000

[5028] <210> 342

[5029] <400> 342

[5030] 000

[5031] <210> 343

[5032] <211> 4

[5033] <212> PRT

[5034] <213> 人工

[5035] <220>

[5036] <223> 合成序列

[5037] <400> 343

[5038] Gly Ser Gly His

[5039] 1

[5040] <210> 344

[5041] <211> 4

[5042] <212> PRT

[5043] <213> 人工

[5044] <220>

[5045] <223> 合成序列

[5046] <400> 344

[5047] His His Ser Gly

[5048] 1

[5049] <210> 345

[5050] <211> 4

[5051] <212> PRT

[5052] <213> 人工

[5053] <220>

[5054] <223> 合成序列

[5055] <400> 345

[5056] His Gly Ser His

[5057] 1

[5058] <210> 346

[5059] <211> 4

[5060] <212> PRT

[5061] <213> 人工

[5062] <220>

[5063] <223> 合成序列

[5064] <400> 346

[5065] Gly Ser Gly Pro

[5066] 1

[5067] <210> 347

[5068] <211> 4

[5069] <212> PRT
[5070] <213> 人工
[5071] <220>
[5072] <223> 合成序列
[5073] <400> 347
[5074] His Ser Gly Gly
[5075] 1
[5076] <210> 348
[5077] <211> 4
[5078] <212> PRT
[5079] <213> 人工
[5080] <220>
[5081] <223> 合成序列
[5082] <400> 348
[5083] His Gly Ser Gly
[5084] 1
[5085] <210> 349
[5086] <211> 4
[5087] <212> PRT
[5088] <213> 人工
[5089] <220>
[5090] <223> 合成序列
[5091] <400> 349
[5092] Lys Asp Ser Gln
[5093] 1
[5094] <210> 350
[5095] <211> 28
[5096] <212> PRT
[5097] <213> 人工
[5098] <220>
[5099] <223> 合成序列
[5100] <400> 350
[5101] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[5102] 1 5 10 15
[5103] Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
[5104] 20 25
[5105] <210> 351
[5106] <211> 15
[5107] <212> PRT

[5108] <213> 人工

[5109] <220>

[5110] <223> 合成序列

[5111] <400> 351

[5112] Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro

[5113] 1 5 10 15

[5114] <210> 352

[5115] <211> 17

[5116] <212> PRT

[5117] <213> 人工

[5118] <220>

[5119] <223> 合成序列

[5120] <400> 352

[5121] Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Glu Gly Glu Leu

[5122] 1 5 10 15

[5123] Glu

[5124] <210> 353

[5125] <211> 17

[5126] <212> PRT

[5127] <213> 人工

[5128] <220>

[5129] <223> 合成序列

[5130] <400> 353

[5131] Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly

[5132] 1 5 10 15

[5133] Ser

[5134] <210> 354

[5135] <211> 2

[5136] <212> PRT

[5137] <213> 人工

[5138] <220>

[5139] <223> 合成序列

[5140] <400> 354

[5141] Gly Ser

[5142] 1

[5143] <210> 355

[5144] <211> 5

[5145] <212> PRT

[5146] <213> 人工

[5147] <220>
[5148] <223> 合成序列
[5149] <400> 355
[5150] Gly Gly Gly Gly Ser
[5151] 1 5
[5152] <210> 356
[5153] <211> 10
[5154] <212> PRT
[5155] <213> 人工
[5156] <220>
[5157] <223> 合成序列
[5158] <400> 356
[5159] Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp
[5160] 1 5 10
[5161] <210> 357
[5162] <211> 10
[5163] <212> PRT
[5164] <213> 人工
[5165] <220>
[5166] <223> 合成序列
[5167] <400> 357
[5168] Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
[5169] 1 5 10
[5170] <210> 358
[5171] <211> 12
[5172] <212> PRT
[5173] <213> 人工
[5174] <220>
[5175] <223> 合成序列
[5176] <400> 358
[5177] Gly Ser His His His His His His His His Gly Ser
[5178] 1 5 10
[5179] <210> 359
[5180] <211> 15
[5181] <212> PRT
[5182] <213> 人工
[5183] <220>
[5184] <223> 合成序列
[5185] <400> 359

[5186] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5187] 1 5 10 15
[5188] <210> 360
[5189] <211> 15
[5190] <212> PRT
[5191] <213> 人工
[5192] <220>
[5193] <223> 合成序列
[5194] <400> 360
[5195] Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5196] 1 5 10 15
[5197] <210> 361
[5198] <211> 16
[5199] <212> PRT
[5200] <213> 人工
[5201] <220>
[5202] <223> 合成序列
[5203] <400> 361
[5204] Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
[5205] 1 5 10 15
[5206] <210> 362
[5207] <211> 18
[5208] <212> PRT
[5209] <213> 人工
[5210] <220>
[5211] <223> 合成序列
[5212] <400> 362
[5213] Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser
[5214] 1 5 10 15
[5215] Pro Ser
[5216] <210> 363
[5217] <211> 23
[5218] <212> PRT
[5219] <213> 人工
[5220] <220>
[5221] <223> 合成序列
[5222] <400> 363
[5223] Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu
[5224] 1 5 10 15

[5225] Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro
[5226] 20
[5227] <210> 364
[5228] <211> 25
[5229] <212> PRT
[5230] <213> 人工
[5231] <220>
[5232] <223> 合成序列
[5233] <400> 364
[5234] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[5235] 1 5 10 15
[5236] Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5237] 20 25
[5238] <210> 365
[5239] <211> 30
[5240] <212> PRT
[5241] <213> 人工
[5242] <220>
[5243] <223> 合成序列
[5244] <400> 365
[5245] Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro
[5246] 1 5 10 15
[5247] Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
[5248] 20 25 30
[5249] <210> 366
[5250] <211> 36
[5251] <212> PRT
[5252] <213> 人工
[5253] <220>
[5254] <223> 合成序列
[5255] <400> 366
[5256] Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser
[5257] 1 5 10 15
[5258] Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr
[5259] 20 25 30
[5260] Pro Ser Pro Ser
[5261] 35
[5262] <210> 367
[5263] <211> 5

[5264] <212> PRT
[5265] <213> 人工
[5266] <220>
[5267] <223> 合成序列
[5268] <400> 367
[5269] Pro Ser Pro Glu Pro
[5270] 1 5
[5271] <210> 368
[5272] <211> 20
[5273] <212> PRT
[5274] <213> 人工
[5275] <220>
[5276] <223> 合成序列
[5277] <400> 368
[5278] Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro
[5279] 1 5 10 15
[5280] Thr Pro Glu Pro
[5281] 20
[5282] <210> 369
[5283] <211> 40
[5284] <212> PRT
[5285] <213> 人工
[5286] <220>
[5287] <223> 合成序列
[5288] <400> 369
[5289] Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro
[5290] 1 5 10 15
[5291] Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser
[5292] 20 25 30
[5293] Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
[5294] 35 40
[5295] <210> 370
[5296] <211> 20
[5297] <212> PRT
[5298] <213> 人工
[5299] <220>
[5300] <223> 合成序列
[5301] <400> 370
[5302] Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro

[5303] 1 5 10 15

[5304] Ser Pro Glu Pro

[5305] 20

[5306] <210> 371

[5307] <211> 14

[5308] <212> PRT

[5309] <213> 人工

[5310] <220>

[5311] <223> 合成序列

[5312] <400> 371

[5313] Pro Ser Pro Glu Pro Gly Gly Gly Ser Pro Thr Pro Glu Pro

[5314] 1 5 10

[5315] <210> 372

[5316] <211> 14

[5317] <212> PRT

[5318] <213> 人工

[5319] <220>

[5320] <223> 合成序列

[5321] <400> 372

[5322] Pro Ser Pro Glu Pro Glu Glu Glu Asp Pro Thr Pro Glu Pro

[5323] 1 5 10

[5324] <210> 373

[5325] <211> 24

[5326] <212> PRT

[5327] <213> 人工

[5328] <220>

[5329] <223> 合成序列

[5330] <400> 373

[5331] Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Glu Glu Glu Asp Pro Ser

[5332] 1 5 10 15

[5333] Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro

[5334] 20

[5335] <210> 374

[5336] <211> 34

[5337] <212> PRT

[5338] <213> 人工

[5339] <220>

[5340] <223> 合成序列

[5341] <400> 374

[5342] Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Glu
[5343] 1 5 10 15
[5344] Glu Glu Asp Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro
[5345] 20 25 30
[5346] Glu Pro
[5347] <210> 375
[5348] <211> 35
[5349] <212> PRT
[5350] <213> 人工
[5351] <220>
[5352] <223> 合成序列
[5353] <400> 375
[5354] Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Gly
[5355] 1 5 10 15
[5356] Gly Gly Gly Ser Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser
[5357] 20 25 30
[5358] Pro Glu Pro
[5359] 35
[5360] <210> 376
[5361] <211> 26
[5362] <212> PRT
[5363] <213> 人工
[5364] <220>
[5365] <223> 合成序列
[5366] <400> 376
[5367] Pro Ser Pro Glu Pro Thr Pro Glu Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro
[5368] 1 5 10 15
[5369] Glu Pro Ser Pro Glu Pro Thr Pro Glu Pro
[5370] 20 25
[5371] <210> 377
[5372] <211> 5
[5373] <212> PRT
[5374] <213> 人工
[5375] <220>
[5376] <223> 合成序列
[5377] <400> 377
[5378] Gly Glu Thr Gly Ser
[5379] 1 5
[5380] <210> 378

[5381] <211> 10
[5382] <212> PRT
[5383] <213> 人工
[5384] <220>
[5385] <223> 合成序列
[5386] <400> 378
[5387] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5388] 1 5 10
[5389] <210> 379
[5390] <211> 10
[5391] <212> PRT
[5392] <213> 人工
[5393] <220>
[5394] <223> 合成序列
[5395] <400> 379
[5396] Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu Gly Thr
[5397] 1 5 10
[5398] <210> 380
[5399] <211> 15
[5400] <212> PRT
[5401] <213> 人工
[5402] <220>
[5403] <223> 合成序列
[5404] <400> 380
[5405] Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser
[5406] 1 5 10 15
[5407] <210> 381
[5408] <211> 20
[5409] <212> PRT
[5410] <213> 人工
[5411] <220>
[5412] <223> 合成序列
[5413] <400> 381
[5414] Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
[5415] 1 5 10 15
[5416] Gly Gly Gly Ser
[5417] 20
[5418] <210> 382
[5419] <211> 20

[5420] <212> PRT
[5421] <213> 人工
[5422] <220>
[5423] <223> 合成序列
[5424] <400> 382
[5425] Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser Gly
[5426] 1 5 10 15
[5427] Ala Gly Glu Ser
[5428] 20
[5429] <210> 383
[5430] <211> 30
[5431] <212> PRT
[5432] <213> 人工
[5433] <220>
[5434] <223> 合成序列
[5435] <400> 383
[5436] Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser Gly
[5437] 1 5 10 15
[5438] Ala Gly Glu Ser Gly Thr Gly Glu Ser Gly Glu Gly Gly Ser
[5439] 20 25 30
[5440] <210> 384
[5441] <400> 384
[5442] 000
[5443] <210> 385
[5444] <400> 385
[5445] 000
[5446] <210> 386
[5447] <400> 386
[5448] 000
[5449] <210> 387
[5450] <400> 387
[5451] 000
[5452] <210> 388
[5453] <400> 388
[5454] 000
[5455] <210> 389
[5456] <400> 389
[5457] 000
[5458] <210> 390

[5459] <400> 390

[5460] 000

[5461] <210> 391

[5462] <400> 391

[5463] 000

[5464] <210> 392

[5465] <400> 392

[5466] 000

[5467] <210> 393

[5468] <400> 393

[5469] 000

[5470] <210> 394

[5471] <400> 394

[5472] 000

[5473] <210> 395

[5474] <400> 395

[5475] 000

[5476] <210> 396

[5477] <400> 396

[5478] 000

[5479] <210> 397

[5480] <400> 397

[5481] 000

[5482] <210> 398

[5483] <400> 398

[5484] 000

[5485] <210> 399

[5486] <400> 399

[5487] 000

[5488] <210> 400

[5489] <400> 400

[5490] 000

[5491] <210> 401

[5492] <211> 277

[5493] <212> PRT

[5494] <213> 人工

[5495] <220>

[5496] <223> 合成序列

[5497] <400> 401

[5498] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[5499] 1 5 10 15
[5500] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[5501] 20 25 30
[5502] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[5503] 35 40 45
[5504] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[5505] 50 55 60
[5506] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[5507] 65 70 75 80
[5508] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[5509] 85 90 95
[5510] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser
[5511] 100 105 110
[5512] Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr
[5513] 115 120 125
[5514] Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly
[5515] 130 135 140
[5516] Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu
[5517] 145 150 155 160
[5518] Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser
[5519] 165 170 175
[5520] Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His
[5521] 180 185 190
[5522] Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly
[5523] 195 200 205
[5524] Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly
[5525] 210 215 220
[5526] Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[5527] 225 230 235 240
[5528] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[5529] 245 250 255
[5530] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[5531] 260 265 270
[5532] Pro Ser Tyr Ala Ser
[5533] 275
[5534] <210> 402
[5535] <211> 280
[5536] <212> PRT

[5537] <213> 人工

[5538] <220>

[5539] <223> 合成序列

[5540] <400> 402

[5541] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[5542] 1 5 10 15
[5543] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[5544] 20 25 30
[5545] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[5546] 35 40 45
[5547] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[5548] 50 55 60
[5549] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[5550] 65 70 75 80
[5551] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[5552] 85 90 95
[5553] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro
[5554] 100 105 110
[5555] Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
[5556] 115 120 125
[5557] Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
[5558] 130 135 140
[5559] Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
[5560] 145 150 155 160
[5561] Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
[5562] 165 170 175
[5563] Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
[5564] 180 185 190
[5565] Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
[5566] 195 200 205
[5567] Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
[5568] 210 215 220
[5569] His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
[5570] 225 230 235 240
[5571] Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
[5572] 245 250 255
[5573] Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
[5574] 260 265 270
[5575] Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[5576] 275 280

[5577] <210> 403

[5578] <211> 285

[5579] <212> PRT

[5580] <213> 人工

[5581] <220>

[5582] <223> 合成序列

[5583] <400> 403

[5584] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[5585] 1 5 10 15

[5586] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr

[5587] 20 25 30

[5588] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly

[5589] 35 40 45

[5590] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr

[5591] 50 55 60

[5592] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[5593] 65 70 75 80

[5594] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

[5595] 85 90 95

[5596] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu

[5597] 100 105 110

[5598] Asp His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln

[5599] 115 120 125

[5600] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala

[5601] 130 135 140

[5602] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln

[5603] 145 150 155 160

[5604] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile

[5605] 165 170 175

[5606] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp

[5607] 180 185 190

[5608] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe

[5609] 195 200 205

[5610] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[5611] 210 215 220

[5612] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe

[5613] 225 230 235 240

[5614] Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile

[5615] 245 250 255
[5616] Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met
[5617] 260 265 270
[5618] Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[5619] 275 280 285
[5620] <210> 404
[5621] <211> 285
[5622] <212> PRT
[5623] <213> 人工
[5624] <220>
[5625] <223> 合成序列
[5626] <400> 404
[5627] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[5628] 1 5 10 15
[5629] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[5630] 20 25 30
[5631] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[5632] 35 40 45
[5633] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[5634] 50 55 60
[5635] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[5636] 65 70 75 80
[5637] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[5638] 85 90 95
[5639] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[5640] 100 105 110
[5641] Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[5642] 115 120 125
[5643] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[5644] 130 135 140
[5645] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[5646] 145 150 155 160
[5647] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[5648] 165 170 175
[5649] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[5650] 180 185 190
[5651] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[5652] 195 200 205
[5653] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala

[5654] 210 215 220

[5655] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe

[5656] 225 230 235 240

[5657] Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile

[5658] 245 250 255

[5659] Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met

[5660] 260 265 270

[5661] Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[5662] 275 280 285

[5663] <210> 405

[5664] <211> 287

[5665] <212> PRT

[5666] <213> 人工

[5667] <220>

[5668] <223> 合成序列

[5669] <400> 405

[5670] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[5671] 1 5 10 15

[5672] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr

[5673] 20 25 30

[5674] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly

[5675] 35 40 45

[5676] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr

[5677] 50 55 60

[5678] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[5679] 65 70 75 80

[5680] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

[5681] 85 90 95

[5682] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Gly Ser His His His His His His His

[5683] 100 105 110

[5684] His Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly

[5685] 115 120 125

[5686] Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr

[5687] 130 135 140

[5688] Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala

[5689] 145 150 155 160

[5690] Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly

[5691] 165 170 175

[5692] Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg

[5693] 180 185 190
[5694] Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
[5695] 195 200 205
[5696] Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
[5697] 210 215 220
[5698] Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala
[5699] 225 230 235 240
[5700] Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro
[5701] 245 250 255
[5702] Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu
[5703] 260 265 270
[5704] Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[5705] 275 280 285
[5706] <210> 406
[5707] <211> 290
[5708] <212> PRT
[5709] <213> 人工
[5710] <220>
[5711] <223> 合成序列
[5712] <400> 406
[5713] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[5714] 1 5 10 15
[5715] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[5716] 20 25 30
[5717] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[5718] 35 40 45
[5719] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[5720] 50 55 60
[5721] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[5722] 65 70 75 80
[5723] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[5724] 85 90 95
[5725] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[5726] 100 105 110
[5727] Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu
[5728] 115 120 125
[5729] Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala
[5730] 130 135 140
[5731] Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly

[5732] 145 150 155 160
[5733] Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu
[5734] 165 170 175
[5735] Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu
[5736] 180 185 190
[5737] Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro
[5738] 195 200 205
[5739] Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val
[5740] 210 215 220
[5741] Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg
[5742] 225 230 235 240
[5743] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro
[5744] 245 250 255
[5745] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser
[5746] 260 265 270
[5747] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr
[5748] 275 280 285
[5749] Ala Ser
[5750] 290
[5751] <210> 407
[5752] <211> 290
[5753] <212> PRT
[5754] <213> 人工
[5755] <220>
[5756] <223> 合成序列
[5757] <400> 407
[5758] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[5759] 1 5 10 15
[5760] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[5761] 20 25 30
[5762] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[5763] 35 40 45
[5764] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[5765] 50 55 60
[5766] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[5767] 65 70 75 80
[5768] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[5769] 85 90 95
[5770] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[5771] 100 105 110
[5772] Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu
[5773] 115 120 125
[5774] Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala
[5775] 130 135 140
[5776] Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly
[5777] 145 150 155 160
[5778] Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu
[5779] 165 170 175
[5780] Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu
[5781] 180 185 190
[5782] Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro
[5783] 195 200 205
[5784] Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val
[5785] 210 215 220
[5786] Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg
[5787] 225 230 235 240
[5788] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro
[5789] 245 250 255
[5790] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser
[5791] 260 265 270
[5792] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr
[5793] 275 280 285
[5794] Ala Ser
[5795] 290
[5796] <210> 408
[5797] <211> 291
[5798] <212> PRT
[5799] <213> 人工
[5800] <220>
[5801] <223> 合成序列
[5802] <400> 408
[5803] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[5804] 1 5 10 15
[5805] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[5806] 20 25 30
[5807] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[5808] 35 40 45
[5809] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr

[5810] 50 55 60

[5811] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[5812] 65 70 75 80

[5813] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

[5814] 85 90 95

[5815] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly

[5816] 100 105 110

[5817] Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu

[5818] 115 120 125

[5819] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp

[5820] 130 135 140

[5821] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val

[5822] 145 150 155 160

[5823] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala

[5824] 165 170 175

[5825] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe

[5826] 180 185 190

[5827] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp

[5828] 195 200 205

[5829] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn

[5830] 210 215 220

[5831] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly

[5832] 225 230 235 240

[5833] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro

[5834] 245 250 255

[5835] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser

[5836] 260 265 270

[5837] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser

[5838] 275 280 285

[5839] Tyr Ala Ser

[5840] 290

[5841] <210> 409

[5842] <211> 293

[5843] <212> PRT

[5844] <213> 人工

[5845] <220>

[5846] <223> 合成序列

[5847] <400> 409

[5848] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[5849] 1 5 10 15

[5850] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr

[5851] 20 25 30

[5852] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly

[5853] 35 40 45

[5854] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr

[5855] 50 55 60

[5856] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[5857] 65 70 75 80

[5858] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

[5859] 85 90 95

[5860] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro

[5861] 100 105 110

[5862] Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser

[5863] 115 120 125

[5864] Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr

[5865] 130 135 140

[5866] Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

[5867] 145 150 155 160

[5868] Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu

[5869] 165 170 175

[5870] Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser

[5871] 180 185 190

[5872] Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His

[5873] 195 200 205

[5874] Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly

[5875] 210 215 220

[5876] Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly

[5877] 225 230 235 240

[5878] Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro

[5879] 245 250 255

[5880] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val

[5881] 260 265 270

[5882] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser

[5883] 275 280 285

[5884] Pro Ser Tyr Ala Ser

[5885] 290

[5886] <210> 410

[5887] <211> 298

[5888] <212> PRT

[5889] <213> 人工

[5890] <220>

[5891] <223> 合成序列

[5892] <400> 410

[5893] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[5894] 1 5 10 15

[5895] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr

[5896] 20 25 30

[5897] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly

[5898] 35 40 45

[5899] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr

[5900] 50 55 60

[5901] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[5902] 65 70 75 80

[5903] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

[5904] 85 90 95

[5905] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu

[5906] 100 105 110

[5907] Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro His Pro

[5908] 115 120 125

[5909] Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln

[5910] 130 135 140

[5911] Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu

[5912] 145 150 155 160

[5913] Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu

[5914] 165 170 175

[5915] Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu

[5916] 180 185 190

[5917] Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu

[5918] 195 200 205

[5919] Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu

[5920] 210 215 220

[5921] Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu

[5922] 225 230 235 240

[5923] Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

[5924] 245 250 255

[5925] Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro

[5926] 260 265 270

[5927] Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro
[5928] 275 280 285
[5929] Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[5930] 290 295
[5931] <210> 411
[5932] <211> 300
[5933] <212> PRT
[5934] <213> 人工
[5935] <220>
[5936] <223> 合成序列
[5937] <400> 411
[5938] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[5939] 1 5 10 15
[5940] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[5941] 20 25 30
[5942] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[5943] 35 40 45
[5944] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[5945] 50 55 60
[5946] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[5947] 65 70 75 80
[5948] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[5949] 85 90 95
[5950] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[5951] 100 105 110
[5952] Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[5953] 115 120 125
[5954] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[5955] 130 135 140
[5956] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[5957] 145 150 155 160
[5958] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[5959] 165 170 175
[5960] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[5961] 180 185 190
[5962] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[5963] 195 200 205
[5964] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[5965] 210 215 220

[5966] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[5967] 225 230 235 240
[5968] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[5969] 245 250 255
[5970] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[5971] 260 265 270
[5972] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[5973] 275 280 285
[5974] Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[5975] 290 295 300
[5976] <210> 412
[5977] <211> 305
[5978] <212> PRT
[5979] <213> 人工
[5980] <220>
[5981] <223> 合成序列
[5982] <400> 412
[5983] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[5984] 1 5 10 15
[5985] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[5986] 20 25 30
[5987] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[5988] 35 40 45
[5989] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[5990] 50 55 60
[5991] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[5992] 65 70 75 80
[5993] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[5994] 85 90 95
[5995] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[5996] 100 105 110
[5997] Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro
[5998] 115 120 125
[5999] Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
[6000] 130 135 140
[6001] Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln
[6002] 145 150 155 160
[6003] Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly
[6004] 165 170 175

[6005] Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
[6006] 180 185 190
[6007] Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
[6008] 195 200 205
[6009] Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
[6010] 210 215 220
[6011] Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
[6012] 225 230 235 240
[6013] Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly
[6014] 245 250 255
[6015] Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
[6016] 260 265 270
[6017] Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
[6018] 275 280 285
[6019] Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
[6020] 290 295 300
[6021] Ser
[6022] 305
[6023] <210> 413
[6024] <211> 311
[6025] <212> PRT
[6026] <213> 人工
[6027] <220>
[6028] <223> 合成序列
[6029] <400> 413
[6030] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6031] 1 5 10 15
[6032] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6033] 20 25 30
[6034] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6035] 35 40 45
[6036] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6037] 50 55 60
[6038] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6039] 65 70 75 80
[6040] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[6041] 85 90 95
[6042] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
[6043] 100 105 110

[6044] Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro
[6045] 115 120 125
[6046] Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser His Pro Ile Pro Asp
[6047] 130 135 140
[6048] Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu
[6049] 145 150 155 160
[6050] Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu
[6051] 165 170 175
[6052] Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu
[6053] 180 185 190
[6054] Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys
[6055] 195 200 205
[6056] Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser
[6057] 210 215 220
[6058] Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu
[6059] 225 230 235 240
[6060] Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
[6061] 245 250 255
[6062] Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu
[6063] 260 265 270
[6064] Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro
[6065] 275 280 285
[6066] Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly
[6067] 290 295 300
[6068] Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6069] 305 310
[6070] <210> 414
[6071] <211> 280
[6072] <212> PRT
[6073] <213> 人工
[6074] <220>
[6075] <223> 合成序列
[6076] <400> 414
[6077] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6078] 1 5 10 15
[6079] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6080] 20 25 30
[6081] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6082] 35 40 45

[6083] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6084] 50 55 60
[6085] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6086] 65 70 75 80
[6087] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[6088] 85 90 95
[6089] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro His Pro Ile Pro
[6090] 100 105 110
[6091] Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
[6092] 115 120 125
[6093] Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
[6094] 130 135 140
[6095] Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
[6096] 145 150 155 160
[6097] Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
[6098] 165 170 175
[6099] Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
[6100] 180 185 190
[6101] Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
[6102] 195 200 205
[6103] Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
[6104] 210 215 220
[6105] His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
[6106] 225 230 235 240
[6107] Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
[6108] 245 250 255
[6109] Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
[6110] 260 265 270
[6111] Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6112] 275 280
[6113] <210> 415
[6114] <211> 295
[6115] <212> PRT
[6116] <213> 人工
[6117] <220>
[6118] <223> 合成序列
[6119] <400> 415
[6120] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6121] 1 5 10 15

[6122] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6123] 20 25 30
[6124] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6125] 35 40 45
[6126] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6127] 50 55 60
[6128] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6129] 65 70 75 80
[6130] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[6131] 85 90 95
[6132] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[6133] 100 105 110
[6134] Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp
[6135] 115 120 125
[6136] Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu
[6137] 130 135 140
[6138] Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu
[6139] 145 150 155 160
[6140] Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu
[6141] 165 170 175
[6142] Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys
[6143] 180 185 190
[6144] Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser
[6145] 195 200 205
[6146] Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu
[6147] 210 215 220
[6148] Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
[6149] 225 230 235 240
[6150] Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu
[6151] 245 250 255
[6152] Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro
[6153] 260 265 270
[6154] Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly
[6155] 275 280 285
[6156] Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6157] 290 295
[6158] <210> 416
[6159] <211> 315
[6160] <212> PRT

[6161] <213> 人工

[6162] <220>

[6163] <223> 合成序列

[6164] <400> 416

[6165] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6166] 1 5 10 15
[6167] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6168] 20 25 30
[6169] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6170] 35 40 45
[6171] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6172] 50 55 60
[6173] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6174] 65 70 75 80
[6175] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[6176] 85 90 95
[6177] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[6178] 100 105 110
[6179] Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro
[6180] 115 120 125
[6181] Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro His
[6182] 130 135 140
[6183] Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg
[6184] 145 150 155 160
[6185] Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu
[6186] 165 170 175
[6187] Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro
[6188] 180 185 190
[6189] Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile
[6190] 195 200 205
[6191] Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala
[6192] 210 215 220
[6193] Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu
[6194] 225 230 235 240
[6195] Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly
[6196] 245 250 255
[6197] Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro
[6198] 260 265 270
[6199] Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala

[6200] 275 280 285

[6201] Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu

[6202] 290 295 300

[6203] Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[6204] 305 310 315

[6205] <210> 417

[6206] <211> 295

[6207] <212> PRT

[6208] <213> 人工

[6209] <220>

[6210] <223> 合成序列

[6211] <400> 417

[6212] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[6213] 1 5 10 15

[6214] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr

[6215] 20 25 30

[6216] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly

[6217] 35 40 45

[6218] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr

[6219] 50 55 60

[6220] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[6221] 65 70 75 80

[6222] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

[6223] 85 90 95

[6224] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu

[6225] 100 105 110

[6226] Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp

[6227] 115 120 125

[6228] Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu

[6229] 130 135 140

[6230] Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu

[6231] 145 150 155 160

[6232] Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu

[6233] 165 170 175

[6234] Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys

[6235] 180 185 190

[6236] Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser

[6237] 195 200 205

[6238] Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu

[6239] 210 215 220
[6240] Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
[6241] 225 230 235 240
[6242] Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu
[6243] 245 250 255
[6244] Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro
[6245] 260 265 270
[6246] Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly
[6247] 275 280 285
[6248] Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6249] 290 295
[6250] <210> 418
[6251] <211> 289
[6252] <212> PRT
[6253] <213> 人工
[6254] <220>
[6255] <223> 合成序列
[6256] <400> 418
[6257] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6258] 1 5 10 15
[6259] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6260] 20 25 30
[6261] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6262] 35 40 45
[6263] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6264] 50 55 60
[6265] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6266] 65 70 75 80
[6267] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[6268] 85 90 95
[6269] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro Gly Gly Gly Ser
[6270] 100 105 110
[6271] Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
[6272] 115 120 125
[6273] Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln
[6274] 130 135 140
[6275] Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly
[6276] 145 150 155 160
[6277] Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys

[6278] 165 170 175
[6279] Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
[6280] 180 185 190
[6281] Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
[6282] 195 200 205
[6283] Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
[6284] 210 215 220
[6285] Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly
[6286] 225 230 235 240
[6287] Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
[6288] 245 250 255
[6289] Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
[6290] 260 265 270
[6291] Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
[6292] 275 280 285
[6293] Ser
[6294] <210> 419
[6295] <211> 289
[6296] <212> PRT
[6297] <213> 人工
[6298] <220>
[6299] <223> 合成序列
[6300] <400> 419
[6301] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6302] 1 5 10 15
[6303] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6304] 20 25 30
[6305] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6306] 35 40 45
[6307] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6308] 50 55 60
[6309] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6310] 65 70 75 80
[6311] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[6312] 85 90 95
[6313] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro Glu Glu Glu Asp
[6314] 100 105 110
[6315] Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
[6316] 115 120 125

[6317] Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln
[6318] 130 135 140
[6319] Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly
[6320] 145 150 155 160
[6321] Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
[6322] 165 170 175
[6323] Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
[6324] 180 185 190
[6325] Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
[6326] 195 200 205
[6327] Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
[6328] 210 215 220
[6329] Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly
[6330] 225 230 235 240
[6331] Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
[6332] 245 250 255
[6333] Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
[6334] 260 265 270
[6335] Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
[6336] 275 280 285
[6337] Ser
[6338] <210> 420
[6339] <211> 299
[6340] <212> PRT
[6341] <213> 人工
[6342] <220>
[6343] <223> 合成序列
[6344] <400> 420
[6345] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6346] 1 5 10 15
[6347] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6348] 20 25 30
[6349] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6350] 35 40 45
[6351] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6352] 50 55 60
[6353] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6354] 65 70 75 80
[6355] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

[6356] 85 90 95
[6357] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[6358] 100 105 110
[6359] Pro Glu Glu Glu Asp Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro His
[6360] 115 120 125
[6361] Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg
[6362] 130 135 140
[6363] Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu
[6364] 145 150 155 160
[6365] Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro
[6366] 165 170 175
[6367] Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile
[6368] 180 185 190
[6369] Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala
[6370] 195 200 205
[6371] Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu
[6372] 210 215 220
[6373] Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly
[6374] 225 230 235 240
[6375] Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro
[6376] 245 250 255
[6377] Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala
[6378] 260 265 270
[6379] Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu
[6380] 275 280 285
[6381] Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6382] 290 295
[6383] <210> 421
[6384] <211> 309
[6385] <212> PRT
[6386] <213> 人工
[6387] <220>
[6388] <223> 合成序列
[6389] <400> 421
[6390] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6391] 1 5 10 15
[6392] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6393] 20 25 30
[6394] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly

[6395] 35 40 45

[6396] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr

[6397] 50 55 60

[6398] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val

[6399] 65 70 75 80

[6400] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile

[6401] 85 90 95

[6402] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu

[6403] 100 105 110

[6404] Pro Pro Thr Pro Glu Pro Glu Glu Glu Asp Pro Ser Pro Glu Pro Pro

[6405] 115 120 125

[6406] Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser

[6407] 130 135 140

[6408] Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr

[6409] 145 150 155 160

[6410] Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

[6411] 165 170 175

[6412] Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu

[6413] 180 185 190

[6414] Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser

[6415] 195 200 205

[6416] Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His

[6417] 210 215 220

[6418] Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly

[6419] 225 230 235 240

[6420] Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly

[6421] 245 250 255

[6422] Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro

[6423] 260 265 270

[6424] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val

[6425] 275 280 285

[6426] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser

[6427] 290 295 300

[6428] Pro Ser Tyr Ala Ser

[6429] 305

[6430] <210> 422

[6431] <211> 310

[6432] <212> PRT

[6433] <213> 人工

[6434] <220>

[6435] <223> 合成序列

[6436] <400> 422

[6437] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6438] 1 5 10 15
[6439] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6440] 20 25 30
[6441] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6442] 35 40 45
[6443] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6444] 50 55 60
[6445] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6446] 65 70 75 80
[6447] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[6448] 85 90 95
[6449] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu
[6450] 100 105 110
[6451] Pro Pro Thr Pro Glu Pro Gly Gly Gly Gly Ser Pro Ser Pro Glu Pro
[6452] 115 120 125
[6453] Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser
[6454] 130 135 140
[6455] Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr
[6456] 145 150 155 160
[6457] Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp
[6458] 165 170 175
[6459] Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln
[6460] 180 185 190
[6461] Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr
[6462] 195 200 205
[6463] Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu
[6464] 210 215 220
[6465] His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp
[6466] 225 230 235 240
[6467] Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu
[6468] 245 250 255
[6469] Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
[6470] 260 265 270
[6471] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[6472] 275 280 285

[6473] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg
[6474] 290 295 300
[6475] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6476] 305 310
[6477] <210> 423
[6478] <211> 301
[6479] <212> PRT
[6480] <213> 人工
[6481] <220>
[6482] <223> 合成序列
[6483] <400> 423
[6484] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[6485] 1 5 10 15
[6486] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp Asp Ala Pro Ala Val Thr Val Arg Tyr
[6487] 20 25 30
[6488] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Arg Glu Val Gln Lys Tyr Ser Asp Leu Gly
[6489] 35 40 45
[6490] Pro Leu Tyr Ile Tyr Gln Glu Phe Thr Val Pro Gly Ser Lys Ser Thr
[6491] 50 55 60
[6492] Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val
[6493] 65 70 75 80
[6494] Tyr Ala Val Thr Gly Ser Gly Glu Ser Pro Ala Ser Ser Lys Pro Ile
[6495] 85 90 95
[6496] Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Pro Pro Ser Pro Glu Pro Thr Pro Glu Pro
[6497] 100 105 110
[6498] Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Ser Pro Glu Pro Thr Pro Glu
[6499] 115 120 125
[6500] Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[6501] 130 135 140
[6502] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[6503] 145 150 155 160
[6504] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[6505] 165 170 175
[6506] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[6507] 180 185 190
[6508] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[6509] 195 200 205
[6510] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[6511] 210 215 220

[6512] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[6513] 225 230 235 240
[6514] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe
[6515] 245 250 255
[6516] Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile
[6517] 260 265 270
[6518] Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met
[6519] 275 280 285
[6520] Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6521] 290 295 300
[6522] <210> 424
[6523] <211> 759
[6524] <212> PRT
[6525] <213> 人工
[6526] <220>
[6527] <223> 合成序列
[6528] <400> 424
[6529] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[6530] 1 5 10 15
[6531] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[6532] 20 25 30
[6533] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[6534] 35 40 45
[6535] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[6536] 50 55 60
[6537] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[6538] 65 70 75 80
[6539] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[6540] 85 90 95
[6541] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[6542] 100 105 110
[6543] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[6544] 115 120 125
[6545] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[6546] 130 135 140
[6547] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[6548] 145 150 155 160
[6549] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[6550] 165 170 175

[6551] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[6552] 180 185 190
[6553] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[6554] 195 200 205
[6555] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[6556] 210 215 220
[6557] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[6558] 225 230 235 240
[6559] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[6560] 245 250 255
[6561] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[6562] 260 265 270
[6563] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[6564] 275 280 285
[6565] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[6566] 290 295 300
[6567] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[6568] 305 310 315 320
[6569] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[6570] 325 330 335
[6571] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[6572] 340 345 350
[6573] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[6574] 355 360 365
[6575] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[6576] 370 375 380
[6577] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[6578] 385 390 395 400
[6579] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[6580] 405 410 415
[6581] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[6582] 420 425 430
[6583] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[6584] 435 440 445
[6585] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[6586] 450 455 460
[6587] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[6588] 465 470 475 480
[6589] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

[6590] 485 490 495
[6591] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[6592] 500 505 510
[6593] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[6594] 515 520 525
[6595] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[6596] 530 535 540
[6597] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[6598] 545 550 555 560
[6599] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[6600] 565 570 575
[6601] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Ser His Pro Ile Pro Asp
[6602] 580 585 590
[6603] Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu
[6604] 595 600 605
[6605] Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu
[6606] 610 615 620
[6607] Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu
[6608] 625 630 635 640
[6609] Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys
[6610] 645 650 655
[6611] Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser
[6612] 660 665 670
[6613] Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu
[6614] 675 680 685
[6615] Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
[6616] 690 695 700
[6617] Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu
[6618] 705 710 715 720
[6619] Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro
[6620] 725 730 735
[6621] Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu
[6622] 740 745 750
[6623] Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6624] 755
[6625] <210> 425
[6626] <211> 762
[6627] <212> PRT
[6628] <213> 人工

[6629] <220>

[6630] <223> 合成序列

[6631] <400> 425

[6632] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[6633] 1 5 10 15

[6634] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[6635] 20 25 30

[6636] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[6637] 35 40 45

[6638] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[6639] 50 55 60

[6640] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[6641] 65 70 75 80

[6642] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[6643] 85 90 95

[6644] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[6645] 100 105 110

[6646] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[6647] 115 120 125

[6648] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[6649] 130 135 140

[6650] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[6651] 145 150 155 160

[6652] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[6653] 165 170 175

[6654] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[6655] 180 185 190

[6656] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[6657] 195 200 205

[6658] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[6659] 210 215 220

[6660] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[6661] 225 230 235 240

[6662] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[6663] 245 250 255

[6664] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[6665] 260 265 270

[6666] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[6667] 275 280 285

[6668] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[6669] 290 295 300
[6670] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[6671] 305 310 315 320
[6672] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[6673] 325 330 335
[6674] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[6675] 340 345 350
[6676] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[6677] 355 360 365
[6678] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[6679] 370 375 380
[6680] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[6681] 385 390 395 400
[6682] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[6683] 405 410 415
[6684] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[6685] 420 425 430
[6686] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[6687] 435 440 445
[6688] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[6689] 450 455 460
[6690] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[6691] 465 470 475 480
[6692] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[6693] 485 490 495
[6694] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[6695] 500 505 510
[6696] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[6697] 515 520 525
[6698] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[6699] 530 535 540
[6700] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[6701] 545 550 555 560
[6702] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[6703] 565 570 575
[6704] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser His Pro
[6705] 580 585 590
[6706] Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln

[6707] 595 600 605
[6708] Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu
[6709] 610 615 620
[6710] Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu
[6711] 625 630 635 640
[6712] Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu
[6713] 645 650 655
[6714] Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu
[6715] 660 665 670
[6716] Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu
[6717] 675 680 685
[6718] Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu
[6719] 690 695 700
[6720] Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
[6721] 705 710 715 720
[6722] Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
[6723] 725 730 735
[6724] Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro
[6725] 740 745 750
[6726] Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6727] 755 760
[6728] <210> 426
[6729] <211> 762
[6730] <212> PRT
[6731] <213> 人工
[6732] <220>
[6733] <223> 合成序列
[6734] <400> 426
[6735] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[6736] 1 5 10 15
[6737] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[6738] 20 25 30
[6739] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[6740] 35 40 45
[6741] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[6742] 50 55 60
[6743] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[6744] 65 70 75 80
[6745] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

[6746] 85 90 95

[6747] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

[6748] 100 105 110

[6749] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

[6750] 115 120 125

[6751] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

[6752] 130 135 140

[6753] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

[6754] 145 150 155 160

[6755] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

[6756] 165 170 175

[6757] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

[6758] 180 185 190

[6759] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

[6760] 195 200 205

[6761] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

[6762] 210 215 220

[6763] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[6764] 225 230 235 240

[6765] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

[6766] 245 250 255

[6767] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

[6768] 260 265 270

[6769] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

[6770] 275 280 285

[6771] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

[6772] 290 295 300

[6773] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

[6774] 305 310 315 320

[6775] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

[6776] 325 330 335

[6777] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

[6778] 340 345 350

[6779] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

[6780] 355 360 365

[6781] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

[6782] 370 375 380

[6783] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

[6784] 385 390 395 400

[6785] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[6786] 405 410 415
[6787] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[6788] 420 425 430
[6789] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[6790] 435 440 445
[6791] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[6792] 450 455 460
[6793] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[6794] 465 470 475 480
[6795] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[6796] 485 490 495
[6797] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[6798] 500 505 510
[6799] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[6800] 515 520 525
[6801] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[6802] 530 535 540
[6803] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[6804] 545 550 555 560
[6805] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[6806] 565 570 575
[6807] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Glu Thr Gly Ser His Pro
[6808] 580 585 590
[6809] Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln
[6810] 595 600 605
[6811] Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu
[6812] 610 615 620
[6813] Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu
[6814] 625 630 635 640
[6815] Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu
[6816] 645 650 655
[6817] Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu
[6818] 660 665 670
[6819] Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu
[6820] 675 680 685
[6821] Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu
[6822] 690 695 700
[6823] Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu

[6824] 705 710 715 720
[6825] Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
[6826] 725 730 735
[6827] Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro
[6828] 740 745 750
[6829] Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6830] 755 760
[6831] <210> 427
[6832] <211> 767
[6833] <212> PRT
[6834] <213> 人工
[6835] <220>
[6836] <223> 合成序列
[6837] <400> 427
[6838] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[6839] 1 5 10 15
[6840] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[6841] 20 25 30
[6842] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[6843] 35 40 45
[6844] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[6845] 50 55 60
[6846] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[6847] 65 70 75 80
[6848] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[6849] 85 90 95
[6850] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[6851] 100 105 110
[6852] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[6853] 115 120 125
[6854] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[6855] 130 135 140
[6856] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[6857] 145 150 155 160
[6858] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[6859] 165 170 175
[6860] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[6861] 180 185 190
[6862] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

[6863] 195 200 205

[6864] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

[6865] 210 215 220

[6866] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[6867] 225 230 235 240

[6868] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

[6869] 245 250 255

[6870] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

[6871] 260 265 270

[6872] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

[6873] 275 280 285

[6874] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

[6875] 290 295 300

[6876] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

[6877] 305 310 315 320

[6878] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

[6879] 325 330 335

[6880] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

[6881] 340 345 350

[6882] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

[6883] 355 360 365

[6884] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

[6885] 370 375 380

[6886] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

[6887] 385 390 395 400

[6888] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

[6889] 405 410 415

[6890] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

[6891] 420 425 430

[6892] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys

[6893] 435 440 445

[6894] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His

[6895] 450 455 460

[6896] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

[6897] 465 470 475 480

[6898] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr

[6899] 485 490 495

[6900] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp

[6901] 500 505 510

[6902] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[6903] 515 520 525
[6904] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[6905] 530 535 540
[6906] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[6907] 545 550 555 560
[6908] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[6909] 565 570 575
[6910] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[6911] 580 585 590
[6912] Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
[6913] 595 600 605
[6914] Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
[6915] 610 615 620
[6916] Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
[6917] 625 630 635 640
[6918] Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
[6919] 645 650 655
[6920] Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
[6921] 660 665 670
[6922] Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
[6923] 675 680 685
[6924] Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
[6925] 690 695 700
[6926] Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala
[6927] 705 710 715 720
[6928] Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro
[6929] 725 730 735
[6930] Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu
[6931] 740 745 750
[6932] Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[6933] 755 760 765
[6934] <210> 428
[6935] <211> 767
[6936] <212> PRT
[6937] <213> 人工
[6938] <220>
[6939] <223> 合成序列
[6940] <400> 428

[6941] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[6942] 1 5 10 15
[6943] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[6944] 20 25 30
[6945] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[6946] 35 40 45
[6947] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[6948] 50 55 60
[6949] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[6950] 65 70 75 80
[6951] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[6952] 85 90 95
[6953] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[6954] 100 105 110
[6955] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[6956] 115 120 125
[6957] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[6958] 130 135 140
[6959] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[6960] 145 150 155 160
[6961] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[6962] 165 170 175
[6963] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[6964] 180 185 190
[6965] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[6966] 195 200 205
[6967] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[6968] 210 215 220
[6969] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[6970] 225 230 235 240
[6971] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[6972] 245 250 255
[6973] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[6974] 260 265 270
[6975] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[6976] 275 280 285
[6977] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[6978] 290 295 300
[6979] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

[6980] 305 310 315 320
[6981] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[6982] 325 330 335
[6983] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[6984] 340 345 350
[6985] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[6986] 355 360 365
[6987] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[6988] 370 375 380
[6989] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[6990] 385 390 395 400
[6991] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[6992] 405 410 415
[6993] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[6994] 420 425 430
[6995] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[6996] 435 440 445
[6997] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[6998] 450 455 460
[6999] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[7000] 465 470 475 480
[7001] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7002] 485 490 495
[7003] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7004] 500 505 510
[7005] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[7006] 515 520 525
[7007] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[7008] 530 535 540
[7009] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[7010] 545 550 555 560
[7011] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[7012] 565 570 575
[7013] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly
[7014] 580 585 590
[7015] Glu Gly Thr His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
[7016] 595 600 605
[7017] Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
[7018] 610 615 620

[7019] Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
[7020] 625 630 635 640
[7021] Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
[7022] 645 650 655
[7023] Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
[7024] 660 665 670
[7025] Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
[7026] 675 680 685
[7027] Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
[7028] 690 695 700
[7029] Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala
[7030] 705 710 715 720
[7031] Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro
[7032] 725 730 735
[7033] Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu
[7034] 740 745 750
[7035] Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[7036] 755 760 765
[7037] <210> 429
[7038] <211> 772
[7039] <212> PRT
[7040] <213> 人工
[7041] <220>
[7042] <223> 合成序列
[7043] <400> 429
[7044] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[7045] 1 5 10 15
[7046] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[7047] 20 25 30
[7048] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[7049] 35 40 45
[7050] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[7051] 50 55 60
[7052] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[7053] 65 70 75 80
[7054] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[7055] 85 90 95
[7056] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[7057] 100 105 110

[7058] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[7059] 115 120 125
[7060] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[7061] 130 135 140
[7062] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[7063] 145 150 155 160
[7064] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[7065] 165 170 175
[7066] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[7067] 180 185 190
[7068] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[7069] 195 200 205
[7070] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[7071] 210 215 220
[7072] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[7073] 225 230 235 240
[7074] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[7075] 245 250 255
[7076] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[7077] 260 265 270
[7078] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[7079] 275 280 285
[7080] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[7081] 290 295 300
[7082] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[7083] 305 310 315 320
[7084] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[7085] 325 330 335
[7086] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[7087] 340 345 350
[7088] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[7089] 355 360 365
[7090] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[7091] 370 375 380
[7092] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[7093] 385 390 395 400
[7094] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[7095] 405 410 415
[7096] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

[7097] 420 425 430
[7098] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[7099] 435 440 445
[7100] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[7101] 450 455 460
[7102] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[7103] 465 470 475 480
[7104] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7105] 485 490 495
[7106] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7107] 500 505 510
[7108] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[7109] 515 520 525
[7110] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[7111] 530 535 540
[7112] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[7113] 545 550 555 560
[7114] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[7115] 565 570 575
[7116] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[7117] 580 585 590
[7118] Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro
[7119] 595 600 605
[7120] Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp
[7121] 610 615 620
[7122] Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr
[7123] 625 630 635 640
[7124] Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys
[7125] 645 650 655
[7126] Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg
[7127] 660 665 670
[7128] Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe
[7129] 675 680 685
[7130] Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr
[7131] 690 695 700
[7132] Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser
[7133] 705 710 715 720
[7134] Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala
[7135] 725 730 735

[7136] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly
[7137] 740 745 750
[7138] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro
[7139] 755 760 765
[7140] Ser Tyr Ala Ser
[7141] 770
[7142] <210> 430
[7143] <211> 772
[7144] <212> PRT
[7145] <213> 人工
[7146] <220>
[7147] <223> 合成序列
[7148] <400> 430
[7149] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[7150] 1 5 10 15
[7151] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[7152] 20 25 30
[7153] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[7154] 35 40 45
[7155] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[7156] 50 55 60
[7157] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[7158] 65 70 75 80
[7159] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[7160] 85 90 95
[7161] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[7162] 100 105 110
[7163] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[7164] 115 120 125
[7165] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[7166] 130 135 140
[7167] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[7168] 145 150 155 160
[7169] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[7170] 165 170 175
[7171] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[7172] 180 185 190
[7173] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[7174] 195 200 205

[7175] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[7176] 210 215 220
[7177] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[7178] 225 230 235 240
[7179] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[7180] 245 250 255
[7181] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[7182] 260 265 270
[7183] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[7184] 275 280 285
[7185] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[7186] 290 295 300
[7187] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[7188] 305 310 315 320
[7189] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[7190] 325 330 335
[7191] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[7192] 340 345 350
[7193] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[7194] 355 360 365
[7195] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[7196] 370 375 380
[7197] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[7198] 385 390 395 400
[7199] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[7200] 405 410 415
[7201] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[7202] 420 425 430
[7203] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[7204] 435 440 445
[7205] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[7206] 450 455 460
[7207] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[7208] 465 470 475 480
[7209] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7210] 485 490 495
[7211] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7212] 500 505 510
[7213] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala

[7214] 515 520 525

[7215] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu

[7216] 530 535 540

[7217] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys

[7218] 545 550 555 560

[7219] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

[7220] 565 570 575

[7221] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly

[7222] 580 585 590

[7223] Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro

[7224] 595 600 605

[7225] Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp

[7226] 610 615 620

[7227] Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr

[7228] 625 630 635 640

[7229] Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys

[7230] 645 650 655

[7231] Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg

[7232] 660 665 670

[7233] Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe

[7234] 675 680 685

[7235] Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr

[7236] 690 695 700

[7237] Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser

[7238] 705 710 715 720

[7239] Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala

[7240] 725 730 735

[7241] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly

[7242] 740 745 750

[7243] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro

[7244] 755 760 765

[7245] Ser Tyr Ala Ser

[7246] 770

[7247] <210> 431

[7248] <211> 777

[7249] <212> PRT

[7250] <213> 人工

[7251] <220>

[7252] <223> 合成序列

[7253] <400> 431

[7254] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[7255] 1 5 10 15
[7256] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[7257] 20 25 30
[7258] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[7259] 35 40 45
[7260] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[7261] 50 55 60
[7262] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[7263] 65 70 75 80
[7264] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[7265] 85 90 95
[7266] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[7267] 100 105 110
[7268] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[7269] 115 120 125
[7270] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[7271] 130 135 140
[7272] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[7273] 145 150 155 160
[7274] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[7275] 165 170 175
[7276] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[7277] 180 185 190
[7278] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[7279] 195 200 205
[7280] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[7281] 210 215 220
[7282] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[7283] 225 230 235 240
[7284] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[7285] 245 250 255
[7286] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[7287] 260 265 270
[7288] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[7289] 275 280 285
[7290] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[7291] 290 295 300

[7292] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[7293] 305 310 315 320
[7294] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[7295] 325 330 335
[7296] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[7297] 340 345 350
[7298] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[7299] 355 360 365
[7300] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[7301] 370 375 380
[7302] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[7303] 385 390 395 400
[7304] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[7305] 405 410 415
[7306] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[7307] 420 425 430
[7308] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[7309] 435 440 445
[7310] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[7311] 450 455 460
[7312] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[7313] 465 470 475 480
[7314] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7315] 485 490 495
[7316] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7317] 500 505 510
[7318] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[7319] 515 520 525
[7320] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[7321] 530 535 540
[7322] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[7323] 545 550 555 560
[7324] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[7325] 565 570 575
[7326] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[7327] 580 585 590
[7328] Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile
[7329] 595 600 605
[7330] Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg

[7331] 610 615 620
[7332] Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile
[7333] 625 630 635 640
[7334] Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser
[7335] 645 650 655
[7336] Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly
[7337] 660 665 670
[7338] Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr
[7339] 675 680 685
[7340] Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu
[7341] 690 695 700
[7342] Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro
[7343] 705 710 715 720
[7344] Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro
[7345] 725 730 735
[7346] Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln
[7347] 740 745 750
[7348] Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser
[7349] 755 760 765
[7350] Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[7351] 770 775
[7352] <210> 432
[7353] <211> 777
[7354] <212> PRT
[7355] <213> 人工
[7356] <220>
[7357] <223> 合成序列
[7358] <400> 432
[7359] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[7360] 1 5 10 15
[7361] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[7362] 20 25 30
[7363] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[7364] 35 40 45
[7365] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[7366] 50 55 60
[7367] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[7368] 65 70 75 80
[7369] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

[7370] 85 90 95

[7371] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

[7372] 100 105 110

[7373] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

[7374] 115 120 125

[7375] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

[7376] 130 135 140

[7377] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

[7378] 145 150 155 160

[7379] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

[7380] 165 170 175

[7381] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

[7382] 180 185 190

[7383] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

[7384] 195 200 205

[7385] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

[7386] 210 215 220

[7387] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[7388] 225 230 235 240

[7389] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

[7390] 245 250 255

[7391] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

[7392] 260 265 270

[7393] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

[7394] 275 280 285

[7395] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

[7396] 290 295 300

[7397] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

[7398] 305 310 315 320

[7399] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

[7400] 325 330 335

[7401] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

[7402] 340 345 350

[7403] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

[7404] 355 360 365

[7405] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

[7406] 370 375 380

[7407] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

[7408] 385 390 395 400

[7409] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[7410] 405 410 415
[7411] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[7412] 420 425 430
[7413] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[7414] 435 440 445
[7415] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[7416] 450 455 460
[7417] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[7418] 465 470 475 480
[7419] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7420] 485 490 495
[7421] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7422] 500 505 510
[7423] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[7424] 515 520 525
[7425] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[7426] 530 535 540
[7427] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[7428] 545 550 555 560
[7429] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[7430] 565 570 575
[7431] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly
[7432] 580 585 590
[7433] Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser His Pro Ile
[7434] 595 600 605
[7435] Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg
[7436] 610 615 620
[7437] Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile
[7438] 625 630 635 640
[7439] Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser
[7440] 645 650 655
[7441] Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly
[7442] 660 665 670
[7443] Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr
[7444] 675 680 685
[7445] Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu
[7446] 690 695 700
[7447] Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro

[7448] 705 710 715 720
[7449] Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro
[7450] 725 730 735
[7451] Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln
[7452] 740 745 750
[7453] Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser
[7454] 755 760 765
[7455] Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[7456] 770 775
[7457] <210> 433
[7458] <400> 433
[7459] 000
[7460] <210> 434
[7461] <211> 771
[7462] <212> PRT
[7463] <213> 人工
[7464] <220>
[7465] <223> 合成序列
[7466] <400> 434
[7467] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[7468] 1 5 10 15
[7469] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[7470] 20 25 30
[7471] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[7472] 35 40 45
[7473] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[7474] 50 55 60
[7475] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[7476] 65 70 75 80
[7477] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[7478] 85 90 95
[7479] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[7480] 100 105 110
[7481] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[7482] 115 120 125
[7483] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[7484] 130 135 140
[7485] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[7486] 145 150 155 160

[7487] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[7488] 165 170 175
[7489] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[7490] 180 185 190
[7491] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[7492] 195 200 205
[7493] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[7494] 210 215 220
[7495] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[7496] 225 230 235 240
[7497] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[7498] 245 250 255
[7499] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[7500] 260 265 270
[7501] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[7502] 275 280 285
[7503] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[7504] 290 295 300
[7505] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[7506] 305 310 315 320
[7507] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[7508] 325 330 335
[7509] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[7510] 340 345 350
[7511] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[7512] 355 360 365
[7513] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[7514] 370 375 380
[7515] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[7516] 385 390 395 400
[7517] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[7518] 405 410 415
[7519] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[7520] 420 425 430
[7521] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[7522] 435 440 445
[7523] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[7524] 450 455 460
[7525] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

[7526] 465 470 475 480
[7527] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7528] 485 490 495
[7529] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7530] 500 505 510
[7531] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[7532] 515 520 525
[7533] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[7534] 530 535 540
[7535] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[7536] 545 550 555 560
[7537] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[7538] 565 570 575
[7539] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[7540] 580 585 590
[7541] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu
[7542] 595 600 605
[7543] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp
[7544] 610 615 620
[7545] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val
[7546] 625 630 635 640
[7547] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala
[7548] 645 650 655
[7549] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe
[7550] 660 665 670
[7551] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp
[7552] 675 680 685
[7553] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn
[7554] 690 695 700
[7555] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly
[7556] 705 710 715 720
[7557] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
[7558] 725 730 735
[7559] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
[7560] 740 745 750
[7561] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser
[7562] 755 760 765
[7563] Tyr Ala Ser
[7564] 770

[7565] <210> 435
[7566] <211> 771
[7567] <212> PRT
[7568] <213> 人工
[7569] <220>
[7570] <223> 合成序列
[7571] <400> 435
[7572] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[7573] 1 5 10 15
[7574] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[7575] 20 25 30
[7576] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[7577] 35 40 45
[7578] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[7579] 50 55 60
[7580] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[7581] 65 70 75 80
[7582] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[7583] 85 90 95
[7584] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[7585] 100 105 110
[7586] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[7587] 115 120 125
[7588] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[7589] 130 135 140
[7590] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[7591] 145 150 155 160
[7592] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[7593] 165 170 175
[7594] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[7595] 180 185 190
[7596] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[7597] 195 200 205
[7598] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[7599] 210 215 220
[7600] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[7601] 225 230 235 240
[7602] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[7603] 245 250 255

[7604] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[7605] 260 265 270
[7606] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[7607] 275 280 285
[7608] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[7609] 290 295 300
[7610] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[7611] 305 310 315 320
[7612] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[7613] 325 330 335
[7614] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[7615] 340 345 350
[7616] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[7617] 355 360 365
[7618] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[7619] 370 375 380
[7620] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[7621] 385 390 395 400
[7622] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[7623] 405 410 415
[7624] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[7625] 420 425 430
[7626] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[7627] 435 440 445
[7628] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[7629] 450 455 460
[7630] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[7631] 465 470 475 480
[7632] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7633] 485 490 495
[7634] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7635] 500 505 510
[7636] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[7637] 515 520 525
[7638] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[7639] 530 535 540
[7640] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[7641] 545 550 555 560
[7642] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val

[7643] 565 570 575
[7644] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu
[7645] 580 585 590
[7646] Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu
[7647] 595 600 605
[7648] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp
[7649] 610 615 620
[7650] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val
[7651] 625 630 635 640
[7652] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala
[7653] 645 650 655
[7654] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe
[7655] 660 665 670
[7656] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp
[7657] 675 680 685
[7658] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn
[7659] 690 695 700
[7660] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly
[7661] 705 710 715 720
[7662] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
[7663] 725 730 735
[7664] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
[7665] 740 745 750
[7666] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser
[7667] 755 760 765
[7668] Tyr Ala Ser
[7669] 770
[7670] <210> 436
[7671] <211> 780
[7672] <212> PRT
[7673] <213> 人工
[7674] <220>
[7675] <223> 合成序列
[7676] <400> 436
[7677] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[7678] 1 5 10 15
[7679] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[7680] 20 25 30
[7681] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu

[7682] 35 40 45

[7683] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys

[7684] 50 55 60

[7685] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu

[7686] 65 70 75 80

[7687] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro

[7688] 85 90 95

[7689] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

[7690] 100 105 110

[7691] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

[7692] 115 120 125

[7693] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

[7694] 130 135 140

[7695] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

[7696] 145 150 155 160

[7697] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

[7698] 165 170 175

[7699] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

[7700] 180 185 190

[7701] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

[7702] 195 200 205

[7703] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

[7704] 210 215 220

[7705] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[7706] 225 230 235 240

[7707] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

[7708] 245 250 255

[7709] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

[7710] 260 265 270

[7711] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

[7712] 275 280 285

[7713] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

[7714] 290 295 300

[7715] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

[7716] 305 310 315 320

[7717] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

[7718] 325 330 335

[7719] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

[7720] 340 345 350

[7721] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[7722] 355 360 365
[7723] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[7724] 370 375 380
[7725] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[7726] 385 390 395 400
[7727] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[7728] 405 410 415
[7729] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[7730] 420 425 430
[7731] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[7732] 435 440 445
[7733] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[7734] 450 455 460
[7735] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[7736] 465 470 475 480
[7737] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7738] 485 490 495
[7739] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7740] 500 505 510
[7741] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[7742] 515 520 525
[7743] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[7744] 530 535 540
[7745] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[7746] 545 550 555 560
[7747] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[7748] 565 570 575
[7749] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[7750] 580 585 590
[7751] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu
[7752] 595 600 605
[7753] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp
[7754] 610 615 620
[7755] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val
[7756] 625 630 635 640
[7757] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala
[7758] 645 650 655
[7759] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe

[7760] 660 665 670
[7761] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp
[7762] 675 680 685
[7763] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn
[7764] 690 695 700
[7765] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn
[7766] 705 710 715 720
[7767] Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[7768] 725 730 735
[7769] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[7770] 740 745 750
[7771] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[7772] 755 760 765
[7773] Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[7774] 770 775 780
[7775] <210> 437
[7776] <211> 780
[7777] <212> PRT
[7778] <213> 人工
[7779] <220>
[7780] <223> 合成序列
[7781] <400> 437
[7782] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[7783] 1 5 10 15
[7784] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[7785] 20 25 30
[7786] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[7787] 35 40 45
[7788] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[7789] 50 55 60
[7790] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[7791] 65 70 75 80
[7792] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[7793] 85 90 95
[7794] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[7795] 100 105 110
[7796] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[7797] 115 120 125
[7798] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

[7799] 130 135 140
[7800] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[7801] 145 150 155 160
[7802] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[7803] 165 170 175
[7804] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[7805] 180 185 190
[7806] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[7807] 195 200 205
[7808] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[7809] 210 215 220
[7810] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[7811] 225 230 235 240
[7812] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[7813] 245 250 255
[7814] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[7815] 260 265 270
[7816] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[7817] 275 280 285
[7818] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[7819] 290 295 300
[7820] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[7821] 305 310 315 320
[7822] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[7823] 325 330 335
[7824] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[7825] 340 345 350
[7826] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[7827] 355 360 365
[7828] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[7829] 370 375 380
[7830] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[7831] 385 390 395 400
[7832] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[7833] 405 410 415
[7834] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[7835] 420 425 430
[7836] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[7837] 435 440 445

[7838] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[7839] 450 455 460
[7840] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[7841] 465 470 475 480
[7842] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[7843] 485 490 495
[7844] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[7845] 500 505 510
[7846] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[7847] 515 520 525
[7848] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[7849] 530 535 540
[7850] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[7851] 545 550 555 560
[7852] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[7853] 565 570 575
[7854] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu
[7855] 580 585 590
[7856] Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu
[7857] 595 600 605
[7858] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp
[7859] 610 615 620
[7860] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val
[7861] 625 630 635 640
[7862] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala
[7863] 645 650 655
[7864] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe
[7865] 660 665 670
[7866] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp
[7867] 675 680 685
[7868] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn
[7869] 690 695 700
[7870] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn
[7871] 705 710 715 720
[7872] Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[7873] 725 730 735
[7874] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[7875] 740 745 750
[7876] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val

[7877] 755 760 765

[7878] Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[7879] 770 775 780

[7880] <210> 438

[7881] <400> 438

[7882] 000

[7883] <210> 439

[7884] <400> 439

[7885] 000

[7886] <210> 440

[7887] <211> 767

[7888] <212> PRT

[7889] <213> 人工

[7890] <220>

[7891] <223> 合成序列

[7892] <400> 440

[7893] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

[7894] 1 5 10 15

[7895] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

[7896] 20 25 30

[7897] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

[7898] 35 40 45

[7899] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln

[7900] 50 55 60

[7901] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly

[7902] 65 70 75 80

[7903] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg

[7904] 85 90 95

[7905] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His

[7906] 100 105 110

[7907] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu

[7908] 115 120 125

[7909] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu

[7910] 130 135 140

[7911] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val

[7912] 145 150 155 160

[7913] Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly

[7914] 165 170 175

[7915] Ser Ser Gly Glu Gly Thr Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg

[7916] 180 185 190
[7917] Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala
[7918] 195 200 205
[7919] Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu
[7920] 210 215 220
[7921] Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser
[7922] 225 230 235 240
[7923] Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu
[7924] 245 250 255
[7925] Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys
[7926] 260 265 270
[7927] Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys
[7928] 275 280 285
[7929] Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val
[7930] 290 295 300
[7931] Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr
[7932] 305 310 315 320
[7933] Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu
[7934] 325 330 335
[7935] Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln
[7936] 340 345 350
[7937] Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg
[7938] 355 360 365
[7939] Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser
[7940] 370 375 380
[7941] Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg
[7942] 385 390 395 400
[7943] Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu
[7944] 405 410 415
[7945] Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu
[7946] 420 425 430
[7947] Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu
[7948] 435 440 445
[7949] Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro
[7950] 450 455 460
[7951] Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met
[7952] 465 470 475 480
[7953] Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp
[7954] 485 490 495

[7955] Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe
[7956] 500 505 510
[7957] Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu
[7958] 515 520 525
[7959] Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala
[7960] 530 535 540
[7961] Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys
[7962] 545 550 555 560
[7963] Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu
[7964] 565 570 575
[7965] Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg
[7966] 580 585 590
[7967] Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val
[7968] 595 600 605
[7969] Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu
[7970] 610 615 620
[7971] Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn
[7972] 625 630 635 640
[7973] Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr
[7974] 645 650 655
[7975] Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala
[7976] 660 665 670
[7977] Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr
[7978] 675 680 685
[7979] Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln
[7980] 690 695 700
[7981] Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys
[7982] 705 710 715 720
[7983] Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe
[7984] 725 730 735
[7985] Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu
[7986] 740 745 750
[7987] Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
[7988] 755 760 765
[7989] <210> 441
[7990] <211> 777
[7991] <212> PRT
[7992] <213> 人工
[7993] <220>

[7994] <223> 合成序列

[7995] <400> 441

[7996] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[7997] 1 5 10 15
[7998] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[7999] 20 25 30
[8000] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8001] 35 40 45
[8002] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8003] 50 55 60
[8004] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8005] 65 70 75 80
[8006] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8007] 85 90 95
[8008] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[8009] 100 105 110
[8010] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[8011] 115 120 125
[8012] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[8013] 130 135 140
[8014] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[8015] 145 150 155 160
[8016] Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly
[8017] 165 170 175
[8018] Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser
[8019] 180 185 190
[8020] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[8021] 195 200 205
[8022] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[8023] 210 215 220
[8024] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[8025] 225 230 235 240
[8026] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[8027] 245 250 255
[8028] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[8029] 260 265 270
[8030] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[8031] 275 280 285
[8032] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu

[8033] 290 295 300

[8034] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His

[8035] 305 310 315 320

[8036] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg

[8037] 325 330 335

[8038] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg

[8039] 340 345 350

[8040] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala

[8041] 355 360 365

[8042] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser

[8043] 370 375 380

[8044] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu

[8045] 385 390 395 400

[8046] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro

[8047] 405 410 415

[8048] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys

[8049] 420 425 430

[8050] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp

[8051] 435 440 445

[8052] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser

[8053] 450 455 460

[8054] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His

[8055] 465 470 475 480

[8056] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser

[8057] 485 490 495

[8058] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

[8059] 500 505 510

[8060] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg

[8061] 515 520 525

[8062] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr

[8063] 530 535 540

[8064] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu

[8065] 545 550 555 560

[8066] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

[8067] 565 570 575

[8068] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu

[8069] 580 585 590

[8070] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro

[8071] 595 600 605

[8072] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[8073] 610 615 620
[8074] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[8075] 625 630 635 640
[8076] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[8077] 645 650 655
[8078] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[8079] 660 665 670
[8080] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[8081] 675 680 685
[8082] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[8083] 690 695 700
[8084] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[8085] 705 710 715 720
[8086] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[8087] 725 730 735
[8088] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[8089] 740 745 750
[8090] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[8091] 755 760 765
[8092] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
[8093] 770 775
[8094] <210> 442
[8095] <211> 787
[8096] <212> PRT
[8097] <213> 人工
[8098] <220>
[8099] <223> 合成序列
[8100] <400> 442
[8101] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[8102] 1 5 10 15
[8103] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8104] 20 25 30
[8105] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8106] 35 40 45
[8107] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8108] 50 55 60
[8109] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8110] 65 70 75 80

[8111] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8112] 85 90 95
[8113] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[8114] 100 105 110
[8115] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[8116] 115 120 125
[8117] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[8118] 130 135 140
[8119] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[8120] 145 150 155 160
[8121] Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly
[8122] 165 170 175
[8123] Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser
[8124] 180 185 190
[8125] Gly Thr Gly Glu Ser Gly Glu Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu
[8126] 195 200 205
[8127] Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu
[8128] 210 215 220
[8129] Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp
[8130] 225 230 235 240
[8131] His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val
[8132] 245 250 255
[8133] Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe
[8134] 260 265 270
[8135] Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu
[8136] 275 280 285
[8137] Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe
[8138] 290 295 300
[8139] Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro
[8140] 305 310 315 320
[8141] Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe
[8142] 325 330 335
[8143] Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr
[8144] 340 345 350
[8145] Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr
[8146] 355 360 365
[8147] Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu
[8148] 370 375 380
[8149] Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu

[8150] 385 390 395 400
[8151] Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp
[8152] 405 410 415
[8153] Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu
[8154] 420 425 430
[8155] Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys
[8156] 435 440 445
[8157] His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys
[8158] 450 455 460
[8159] Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys
[8160] 465 470 475 480
[8161] Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu
[8162] 485 490 495
[8163] Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val
[8164] 500 505 510
[8165] Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe
[8166] 515 520 525
[8167] Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser
[8168] 530 535 540
[8169] Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu
[8170] 545 550 555 560
[8171] Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe
[8172] 565 570 575
[8173] Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln
[8174] 580 585 590
[8175] Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala
[8176] 595 600 605
[8177] Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr
[8178] 610 615 620
[8179] Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys
[8180] 625 630 635 640
[8181] Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser
[8182] 645 650 655
[8183] Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser
[8184] 660 665 670
[8185] Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro
[8186] 675 680 685
[8187] Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe
[8188] 690 695 700

[8189] Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu
[8190] 705 710 715 720
[8191] Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys
[8192] 725 730 735
[8193] His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp
[8194] 740 745 750
[8195] Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr
[8196] 755 760 765
[8197] Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala
[8198] 770 775 780
[8199] Leu Gly Leu
[8200] 785
[8201] <210> 443
[8202] <211> 786
[8203] <212> PRT
[8204] <213> 人工
[8205] <220>
[8206] <223> 合成序列
[8207] <400> 443
[8208] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[8209] 1 5 10 15
[8210] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8211] 20 25 30
[8212] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8213] 35 40 45
[8214] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8215] 50 55 60
[8216] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8217] 65 70 75 80
[8218] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8219] 85 90 95
[8220] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[8221] 100 105 110
[8222] Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
[8223] 115 120 125
[8224] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[8225] 130 135 140
[8226] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[8227] 145 150 155 160

[8228] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[8229] 165 170 175
[8230] Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly
[8231] 180 185 190
[8232] Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val
[8233] 195 200 205
[8234] Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val
[8235] 210 215 220
[8236] Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp His
[8237] 225 230 235 240
[8238] Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala
[8239] 245 250 255
[8240] Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly
[8241] 260 265 270
[8242] Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met
[8243] 275 280 285
[8244] Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu
[8245] 290 295 300
[8246] Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu
[8247] 305 310 315 320
[8248] Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu
[8249] 325 330 335
[8250] Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala
[8251] 340 345 350
[8252] Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu
[8253] 355 360 365
[8254] Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp
[8255] 370 375 380
[8256] Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys
[8257] 385 390 395 400
[8258] Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala
[8259] 405 410 415
[8260] Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val
[8261] 420 425 430
[8262] Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His
[8263] 435 440 445
[8264] Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr
[8265] 450 455 460
[8266] Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys

[8267] 465 470 475 480
[8268] Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn
[8269] 485 490 495
[8270] Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu
[8271] 500 505 510
[8272] Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu
[8273] 515 520 525
[8274] Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val
[8275] 530 535 540
[8276] Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys
[8277] 545 550 555 560
[8278] Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp
[8279] 565 570 575
[8280] Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn
[8281] 580 585 590
[8282] Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu
[8283] 595 600 605
[8284] Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu
[8285] 610 615 620
[8286] Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys
[8287] 625 630 635 640
[8288] His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val
[8289] 645 650 655
[8290] Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp
[8291] 660 665 670
[8292] Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
[8293] 675 680 685
[8294] Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn
[8295] 690 695 700
[8296] Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys
[8297] 705 710 715 720
[8298] Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His
[8299] 725 730 735
[8300] Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe
[8301] 740 745 750
[8302] Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys
[8303] 755 760 765
[8304] Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu
[8305] 770 775 780

[8306] Gly Leu
[8307] 785
[8308] <210> 444
[8309] <400> 444
[8310] 000
[8311] <210> 445
[8312] <400> 445
[8313] 000
[8314] <210> 446
[8315] <211> 964
[8316] <212> PRT
[8317] <213> 人工
[8318] <220>
[8319] <223> 合成序列
[8320] <400> 446
[8321] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[8322] 1 5 10 15
[8323] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8324] 20 25 30
[8325] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8326] 35 40 45
[8327] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8328] 50 55 60
[8329] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8330] 65 70 75 80
[8331] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8332] 85 90 95
[8333] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[8334] 100 105 110
[8335] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[8336] 115 120 125
[8337] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[8338] 130 135 140
[8339] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[8340] 145 150 155 160
[8341] Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly
[8342] 165 170 175
[8343] Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser
[8344] 180 185 190

[8345] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[8346] 195 200 205
[8347] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[8348] 210 215 220
[8349] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[8350] 225 230 235 240
[8351] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[8352] 245 250 255
[8353] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[8354] 260 265 270
[8355] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[8356] 275 280 285
[8357] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[8358] 290 295 300
[8359] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[8360] 305 310 315 320
[8361] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[8362] 325 330 335
[8363] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[8364] 340 345 350
[8365] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[8366] 355 360 365
[8367] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[8368] 370 375 380
[8369] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[8370] 385 390 395 400
[8371] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[8372] 405 410 415
[8373] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[8374] 420 425 430
[8375] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[8376] 435 440 445
[8377] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[8378] 450 455 460
[8379] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[8380] 465 470 475 480
[8381] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[8382] 485 490 495
[8383] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala

[8384] 500 505 510
[8385] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[8386] 515 520 525
[8387] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[8388] 530 535 540
[8389] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[8390] 545 550 555 560
[8391] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[8392] 565 570 575
[8393] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[8394] 580 585 590
[8395] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[8396] 595 600 605
[8397] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
[8398] 610 615 620
[8399] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[8400] 625 630 635 640
[8401] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[8402] 645 650 655
[8403] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[8404] 660 665 670
[8405] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[8406] 675 680 685
[8407] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[8408] 690 695 700
[8409] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[8410] 705 710 715 720
[8411] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[8412] 725 730 735
[8413] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[8414] 740 745 750
[8415] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[8416] 755 760 765
[8417] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
[8418] 770 775 780
[8419] Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro
[8420] 785 790 795 800
[8421] Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp
[8422] 805 810 815

[8423] Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr
[8424] 820 825 830
[8425] Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys
[8426] 835 840 845
[8427] Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg
[8428] 850 855 860
[8429] Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe
[8430] 865 870 875 880
[8431] Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr
[8432] 885 890 895
[8433] Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser
[8434] 900 905 910
[8435] Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala
[8436] 915 920 925
[8437] Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly
[8438] 930 935 940
[8439] Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro
[8440] 945 950 955 960
[8441] Ser Tyr Ala Ser
[8442] <210> 447
[8443] <211> 982
[8444] <212> PRT
[8445] <213> 人工
[8446] <220>
[8447] <223> 合成序列
[8448] <400> 447
[8449] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[8450] 1 5 10 15
[8451] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8452] 20 25 30
[8453] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8454] 35 40 45
[8455] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8456] 50 55 60
[8457] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8458] 65 70 75 80
[8459] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8460] 85 90 95
[8461] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His

[8462] 100 105 110
[8463] Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
[8464] 115 120 125
[8465] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[8466] 130 135 140
[8467] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[8468] 145 150 155 160
[8469] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[8470] 165 170 175
[8471] Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly
[8472] 180 185 190
[8473] Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val
[8474] 195 200 205
[8475] Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val
[8476] 210 215 220
[8477] Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp His
[8478] 225 230 235 240
[8479] Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala
[8480] 245 250 255
[8481] Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly
[8482] 260 265 270
[8483] Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met
[8484] 275 280 285
[8485] Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu
[8486] 290 295 300
[8487] Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu
[8488] 305 310 315 320
[8489] Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu
[8490] 325 330 335
[8491] Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala
[8492] 340 345 350
[8493] Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu
[8494] 355 360 365
[8495] Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp
[8496] 370 375 380
[8497] Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys
[8498] 385 390 395 400
[8499] Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala
[8500] 405 410 415

[8501] Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val
[8502] 420 425 430
[8503] Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His
[8504] 435 440 445
[8505] Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr
[8506] 450 455 460
[8507] Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys
[8508] 465 470 475 480
[8509] Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn
[8510] 485 490 495
[8511] Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu
[8512] 500 505 510
[8513] Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu
[8514] 515 520 525
[8515] Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val
[8516] 530 535 540
[8517] Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys
[8518] 545 550 555 560
[8519] Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp
[8520] 565 570 575
[8521] Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn
[8522] 580 585 590
[8523] Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu
[8524] 595 600 605
[8525] Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu
[8526] 610 615 620
[8527] Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys
[8528] 625 630 635 640
[8529] His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val
[8530] 645 650 655
[8531] Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp
[8532] 660 665 670
[8533] Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
[8534] 675 680 685
[8535] Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn
[8536] 690 695 700
[8537] Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys
[8538] 705 710 715 720
[8539] Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His

[8540] 725 730 735
[8541] Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe
[8542] 740 745 750
[8543] Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys
[8544] 755 760 765
[8545] Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu
[8546] 770 775 780
[8547] Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[8548] 785 790 795 800
[8549] Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[8550] 805 810 815
[8551] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[8552] 820 825 830
[8553] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[8554] 835 840 845
[8555] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[8556] 850 855 860
[8557] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[8558] 865 870 875 880
[8559] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[8560] 885 890 895
[8561] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[8562] 900 905 910
[8563] His Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp
[8564] 915 920 925
[8565] Pro Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
[8566] 930 935 940
[8567] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[8568] 945 950 955 960
[8569] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg
[8570] 965 970 975
[8571] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[8572] 980
[8573] <210> 448
[8574] <211> 963
[8575] <212> PRT
[8576] <213> 人工
[8577] <220>
[8578] <223> 合成序列

[8579] <400> 448

[8580] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[8581] 1 5 10 15
[8582] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8583] 20 25 30
[8584] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8585] 35 40 45
[8586] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8587] 50 55 60
[8588] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8589] 65 70 75 80
[8590] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8591] 85 90 95
[8592] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[8593] 100 105 110
[8594] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[8595] 115 120 125
[8596] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[8597] 130 135 140
[8598] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[8599] 145 150 155 160
[8600] Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly
[8601] 165 170 175
[8602] Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser
[8603] 180 185 190
[8604] Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
[8605] 195 200 205
[8606] Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
[8607] 210 215 220
[8608] Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
[8609] 225 230 235 240
[8610] Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
[8611] 245 250 255
[8612] Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
[8613] 260 265 270
[8614] Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
[8615] 275 280 285
[8616] Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
[8617] 290 295 300

[8618] Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
[8619] 305 310 315 320
[8620] Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
[8621] 325 330 335
[8622] Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
[8623] 340 345 350
[8624] Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
[8625] 355 360 365
[8626] Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
[8627] 370 375 380
[8628] Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
[8629] 385 390 395 400
[8630] Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
[8631] 405 410 415
[8632] Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
[8633] 420 425 430
[8634] Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
[8635] 435 440 445
[8636] Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
[8637] 450 455 460
[8638] Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
[8639] 465 470 475 480
[8640] Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
[8641] 485 490 495
[8642] Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
[8643] 500 505 510
[8644] Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
[8645] 515 520 525
[8646] Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
[8647] 530 535 540
[8648] Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
[8649] 545 550 555 560
[8650] Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
[8651] 565 570 575
[8652] Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
[8653] 580 585 590
[8654] Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
[8655] 595 600 605
[8656] Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

[8657] 610 615 620
[8658] Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
[8659] 625 630 635 640
[8660] Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
[8661] 645 650 655
[8662] Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
[8663] 660 665 670
[8664] Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
[8665] 675 680 685
[8666] Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
[8667] 690 695 700
[8668] Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
[8669] 705 710 715 720
[8670] Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
[8671] 725 730 735
[8672] Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
[8673] 740 745 750
[8674] Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
[8675] 755 760 765
[8676] Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[8677] 770 775 780
[8678] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu
[8679] 785 790 795 800
[8680] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp
[8681] 805 810 815
[8682] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val
[8683] 820 825 830
[8684] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala
[8685] 835 840 845
[8686] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe
[8687] 850 855 860
[8688] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp
[8689] 865 870 875 880
[8690] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn
[8691] 885 890 895
[8692] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly
[8693] 900 905 910
[8694] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
[8695] 915 920 925

[8696] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
[8697] 930 935 940
[8698] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser
[8699] 945 950 955 960
[8700] Tyr Ala Ser
[8701] <210> 449
[8702] <211> 981
[8703] <212> PRT
[8704] <213> 人工
[8705] <220>
[8706] <223> 合成序列
[8707] <400> 449
[8708] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[8709] 1 5 10 15
[8710] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8711] 20 25 30
[8712] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8713] 35 40 45
[8714] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8715] 50 55 60
[8716] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8717] 65 70 75 80
[8718] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8719] 85 90 95
[8720] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[8721] 100 105 110
[8722] Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
[8723] 115 120 125
[8724] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[8725] 130 135 140
[8726] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[8727] 145 150 155 160
[8728] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[8729] 165 170 175
[8730] Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly
[8731] 180 185 190
[8732] Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val
[8733] 195 200 205
[8734] Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val

[8735] 210 215 220

[8736] Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp His

[8737] 225 230 235 240

[8738] Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala

[8739] 245 250 255

[8740] Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly

[8741] 260 265 270

[8742] Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met

[8743] 275 280 285

[8744] Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu

[8745] 290 295 300

[8746] Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu

[8747] 305 310 315 320

[8748] Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu

[8749] 325 330 335

[8750] Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala

[8751] 340 345 350

[8752] Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu

[8753] 355 360 365

[8754] Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp

[8755] 370 375 380

[8756] Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys

[8757] 385 390 395 400

[8758] Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala

[8759] 405 410 415

[8760] Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val

[8761] 420 425 430

[8762] Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His

[8763] 435 440 445

[8764] Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr

[8765] 450 455 460

[8766] Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys

[8767] 465 470 475 480

[8768] Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn

[8769] 485 490 495

[8770] Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu

[8771] 500 505 510

[8772] Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu

[8773] 515 520 525

[8774] Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val
[8775] 530 535 540
[8776] Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys
[8777] 545 550 555 560
[8778] Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp
[8779] 565 570 575
[8780] Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn
[8781] 580 585 590
[8782] Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu
[8783] 595 600 605
[8784] Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu
[8785] 610 615 620
[8786] Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys
[8787] 625 630 635 640
[8788] His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val
[8789] 645 650 655
[8790] Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp
[8791] 660 665 670
[8792] Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
[8793] 675 680 685
[8794] Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn
[8795] 690 695 700
[8796] Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys
[8797] 705 710 715 720
[8798] Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His
[8799] 725 730 735
[8800] Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe
[8801] 740 745 750
[8802] Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys
[8803] 755 760 765
[8804] Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu
[8805] 770 775 780
[8806] Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
[8807] 785 790 795 800
[8808] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[8809] 805 810 815
[8810] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8811] 820 825 830
[8812] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

[8813] 835 840 845
[8814] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8815] 850 855 860
[8816] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8817] 865 870 875 880
[8818] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8819] 885 890 895
[8820] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[8821] 900 905 910
[8822] Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
[8823] 915 920 925
[8824] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[8825] 930 935 940
[8826] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[8827] 945 950 955 960
[8828] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[8829] 965 970 975
[8830] Pro Ser Tyr Ala Ser
[8831] 980
[8832] <210> 450
[8833] <211> 974
[8834] <212> PRT
[8835] <213> 人工
[8836] <220>
[8837] <223> 合成序列
[8838] <400> 450
[8839] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[8840] 1 5 10 15
[8841] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8842] 20 25 30
[8843] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8844] 35 40 45
[8845] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8846] 50 55 60
[8847] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8848] 65 70 75 80
[8849] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8850] 85 90 95
[8851] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His

[8852] 100 105 110
[8853] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[8854] 115 120 125
[8855] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[8856] 130 135 140
[8857] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[8858] 145 150 155 160
[8859] Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly
[8860] 165 170 175
[8861] Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser
[8862] 180 185 190
[8863] Gly Thr Gly Glu Ser Gly Glu Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu
[8864] 195 200 205
[8865] Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu
[8866] 210 215 220
[8867] Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp
[8868] 225 230 235 240
[8869] His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val
[8870] 245 250 255
[8871] Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe
[8872] 260 265 270
[8873] Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu
[8874] 275 280 285
[8875] Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe
[8876] 290 295 300
[8877] Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro
[8878] 305 310 315 320
[8879] Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe
[8880] 325 330 335
[8881] Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr
[8882] 340 345 350
[8883] Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr
[8884] 355 360 365
[8885] Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu
[8886] 370 375 380
[8887] Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu
[8888] 385 390 395 400
[8889] Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp
[8890] 405 410 415

[8891] Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu
[8892] 420 425 430
[8893] Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys
[8894] 435 440 445
[8895] His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys
[8896] 450 455 460
[8897] Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys
[8898] 465 470 475 480
[8899] Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu
[8900] 485 490 495
[8901] Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val
[8902] 500 505 510
[8903] Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe
[8904] 515 520 525
[8905] Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser
[8906] 530 535 540
[8907] Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu
[8908] 545 550 555 560
[8909] Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe
[8910] 565 570 575
[8911] Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln
[8912] 580 585 590
[8913] Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala
[8914] 595 600 605
[8915] Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr
[8916] 610 615 620
[8917] Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys
[8918] 625 630 635 640
[8919] Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser
[8920] 645 650 655
[8921] Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser
[8922] 660 665 670
[8923] Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro
[8924] 675 680 685
[8925] Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe
[8926] 690 695 700
[8927] Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu
[8928] 705 710 715 720
[8929] Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys

[8930] 725 730 735
[8931] His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp
[8932] 740 745 750
[8933] Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr
[8934] 755 760 765
[8935] Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala
[8936] 770 775 780
[8937] Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[8938] 785 790 795 800
[8939] Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
[8940] 805 810 815
[8941] Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu
[8942] 820 825 830
[8943] Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp
[8944] 835 840 845
[8945] Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val
[8946] 850 855 860
[8947] Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro
[8948] 865 870 875 880
[8949] Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser
[8950] 885 890 895
[8951] Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu
[8952] 900 905 910
[8953] Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg
[8954] 915 920 925
[8955] Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
[8956] 930 935 940
[8957] Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
[8958] 945 950 955 960
[8959] Met Val Glu Pro Ser Gln Glu Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[8960] 965 970
[8961] <210> 451
[8962] <211> 992
[8963] <212> PRT
[8964] <213> 人工
[8965] <220>
[8966] <223> 合成序列
[8967] <400> 451
[8968] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

[8969] 1 5 10 15
[8970] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[8971] 20 25 30
[8972] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[8973] 35 40 45
[8974] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[8975] 50 55 60
[8976] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[8977] 65 70 75 80
[8978] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[8979] 85 90 95
[8980] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[8981] 100 105 110
[8982] Gly Leu Pro Leu His Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro
[8983] 115 120 125
[8984] Ala Pro Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro
[8985] 130 135 140
[8986] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[8987] 145 150 155 160
[8988] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[8989] 165 170 175
[8990] Pro Ser Tyr Ala Ser Gly Glu Thr Gly Ser Ser Gly Glu Gly Thr Gly
[8991] 180 185 190
[8992] Ser Thr Gly Ser Gly Ala Gly Glu Ser Gly Thr Gly Glu Ser Gly Glu
[8993] 195 200 205
[8994] Gly Gly Ser Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp
[8995] 210 215 220
[8996] Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln
[8997] 225 230 235 240
[8998] Tyr Leu Gln Gln Ala Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu
[8999] 245 250 255
[9000] Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn
[9001] 260 265 270
[9002] Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val
[9003] 275 280 285
[9004] Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys
[9005] 290 295 300
[9006] Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn
[9007] 305 310 315 320

[9008] Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr
[9009] 325 330 335
[9010] Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu
[9011] 340 345 350
[9012] Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe
[9013] 355 360 365
[9014] Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp
[9015] 370 375 380
[9016] Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly
[9017] 385 390 395 400
[9018] Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys
[9019] 405 410 415
[9020] Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln
[9021] 420 425 430
[9022] Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp
[9023] 435 440 445
[9024] Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys
[9025] 450 455 460
[9026] Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp
[9027] 465 470 475 480
[9028] Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu
[9029] 485 490 495
[9030] Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp
[9031] 500 505 510
[9032] Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys
[9033] 515 520 525
[9034] Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu
[9035] 530 535 540
[9036] Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu
[9037] 545 550 555 560
[9038] Ala Lys Thr Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp
[9039] 565 570 575
[9040] Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val
[9041] 580 585 590
[9042] Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln
[9043] 595 600 605
[9044] Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys
[9045] 610 615 620
[9046] Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn

[9047] 625 630 635 640
[9048] Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg
[9049] 645 650 655
[9050] Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys
[9051] 660 665 670
[9052] Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys
[9053] 675 680 685
[9054] Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val
[9055] 690 695 700
[9056] Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe
[9057] 705 710 715 720
[9058] His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys
[9059] 725 730 735
[9060] Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys
[9061] 740 745 750
[9062] Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys
[9063] 755 760 765
[9064] Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys
[9065] 770 775 780
[9066] Lys Leu Val Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Gly
[9067] 785 790 795 800
[9068] Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp
[9069] 805 810 815
[9070] Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu
[9071] 820 825 830
[9072] Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu
[9073] 835 840 845
[9074] Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu
[9075] 850 855 860
[9076] Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys
[9077] 865 870 875 880
[9078] Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser
[9079] 885 890 895
[9080] Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu
[9081] 900 905 910
[9082] Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
[9083] 915 920 925
[9084] Leu Pro Gly Asn Lys Ser Pro His Arg Asp Pro Ala Pro Arg Gly Pro
[9085] 930 935 940

[9086] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro
[9087] 945 950 955 960
[9088] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro
[9089] 965 970 975
[9090] Leu Ser Met Val Gly Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9091] 980 985 990
[9092] <210> 452
[9093] <211> 272
[9094] <212> PRT
[9095] <213> 人工
[9096] <220>
[9097] <223> 合成序列
[9098] <400> 452
[9099] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9100] 1 5 10 15
[9101] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9102] 20 25 30
[9103] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9104] 35 40 45
[9105] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9106] 50 55 60
[9107] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9108] 65 70 75 80
[9109] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9110] 85 90 95
[9111] Ser Gln Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe
[9112] 100 105 110
[9113] Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln
[9114] 115 120 125
[9115] Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala
[9116] 130 135 140
[9117] Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro
[9118] 145 150 155 160
[9119] Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln
[9120] 165 170 175
[9121] Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala
[9122] 180 185 190
[9123] Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln
[9124] 195 200 205

[9125] Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro
[9126] 210 215 220
[9127] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro
[9128] 225 230 235 240
[9129] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro
[9130] 245 250 255
[9131] Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9132] 260 265 270
[9133] <210> 453
[9134] <211> 275
[9135] <212> PRT
[9136] <213> 人工
[9137] <220>
[9138] <223> 合成序列
[9139] <400> 453
[9140] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9141] 1 5 10 15
[9142] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9143] 20 25 30
[9144] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9145] 35 40 45
[9146] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9147] 50 55 60
[9148] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9149] 65 70 75 80
[9150] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9151] 85 90 95
[9152] Ser Gln Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu
[9153] 100 105 110
[9154] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp
[9155] 115 120 125
[9156] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val
[9157] 130 135 140
[9158] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala
[9159] 145 150 155 160
[9160] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe
[9161] 165 170 175
[9162] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp
[9163] 180 185 190

[9164] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn
[9165] 195 200 205
[9166] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly
[9167] 210 215 220
[9168] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
[9169] 225 230 235 240
[9170] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
[9171] 245 250 255
[9172] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
[9173] 260 265 270
[9174] Tyr Ala Ser
[9175] 275
[9176] <210> 454
[9177] <211> 280
[9178] <212> PRT
[9179] <213> 人工
[9180] <220>
[9181] <223> 合成序列
[9182] <400> 454
[9183] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9184] 1 5 10 15
[9185] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9186] 20 25 30
[9187] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9188] 35 40 45
[9189] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9190] 50 55 60
[9191] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9192] 65 70 75 80
[9193] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9194] 85 90 95
[9195] Ser Gln Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Asp His Pro Ile Pro
[9196] 100 105 110
[9197] Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
[9198] 115 120 125
[9199] Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
[9200] 130 135 140
[9201] Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
[9202] 145 150 155 160

[9203] Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
[9204] 165 170 175
[9205] Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
[9206] 180 185 190
[9207] Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
[9208] 195 200 205
[9209] Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
[9210] 210 215 220
[9211] His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
[9212] 225 230 235 240
[9213] Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
[9214] 245 250 255
[9215] Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
[9216] 260 265 270
[9217] Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9218] 275 280
[9219] <210> 455
[9220] <211> 280
[9221] <212> PRT
[9222] <213> 人工
[9223] <220>
[9224] <223> 合成序列
[9225] <400> 455
[9226] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9227] 1 5 10 15
[9228] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9229] 20 25 30
[9230] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9231] 35 40 45
[9232] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9233] 50 55 60
[9234] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9235] 65 70 75 80
[9236] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9237] 85 90 95
[9238] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro
[9239] 100 105 110
[9240] Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr
[9241] 115 120 125

[9242] Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg
[9243] 130 135 140
[9244] Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu
[9245] 145 150 155 160
[9246] Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val
[9247] 165 170 175
[9248] Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly
[9249] 180 185 190
[9250] Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu
[9251] 195 200 205
[9252] Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu
[9253] 210 215 220
[9254] His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly
[9255] 225 230 235 240
[9256] Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
[9257] 245 250 255
[9258] Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
[9259] 260 265 270
[9260] Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9261] 275 280
[9262] <210> 456
[9263] <211> 282
[9264] <212> PRT
[9265] <213> 人工
[9266] <220>
[9267] <223> 合成序列
[9268] <400> 456
[9269] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9270] 1 5 10 15
[9271] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9272] 20 25 30
[9273] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9274] 35 40 45
[9275] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9276] 50 55 60
[9277] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9278] 65 70 75 80
[9279] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9280] 85 90 95

[9281] Ser Gln Gly Ser His His His His His His His His Gly Ser His Pro
[9282] 100 105 110
[9283] Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln
[9284] 115 120 125
[9285] Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu
[9286] 130 135 140
[9287] Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu
[9288] 145 150 155 160
[9289] Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu
[9290] 165 170 175
[9291] Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu
[9292] 180 185 190
[9293] Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu
[9294] 195 200 205
[9295] Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu
[9296] 210 215 220
[9297] Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu
[9298] 225 230 235 240
[9299] Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro
[9300] 245 250 255
[9301] Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro
[9302] 260 265 270
[9303] Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9304] 275 280
[9305] <210> 457
[9306] <211> 285
[9307] <212> PRT
[9308] <213> 人工
[9309] <220>
[9310] <223> 合成序列
[9311] <400> 457
[9312] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9313] 1 5 10 15
[9314] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9315] 20 25 30
[9316] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9317] 35 40 45
[9318] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9319] 50 55 60

[9320] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9321] 65 70 75 80
[9322] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9323] 85 90 95
[9324] Ser Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[9325] 100 105 110
[9326] Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[9327] 115 120 125
[9328] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[9329] 130 135 140
[9330] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[9331] 145 150 155 160
[9332] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[9333] 165 170 175
[9334] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[9335] 180 185 190
[9336] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[9337] 195 200 205
[9338] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[9339] 210 215 220
[9340] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe
[9341] 225 230 235 240
[9342] Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile
[9343] 245 250 255
[9344] Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met
[9345] 260 265 270
[9346] Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9347] 275 280 285
[9348] <210> 458
[9349] <211> 285
[9350] <212> PRT
[9351] <213> 人工
[9352] <220>
[9353] <223> 合成序列
[9354] <400> 458
[9355] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9356] 1 5 10 15
[9357] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9358] 20 25 30

[9359] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9360] 35 40 45
[9361] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9362] 50 55 60
[9363] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9364] 65 70 75 80
[9365] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9366] 85 90 95
[9367] Ser Gln Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[9368] 100 105 110
[9369] Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[9370] 115 120 125
[9371] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[9372] 130 135 140
[9373] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[9374] 145 150 155 160
[9375] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[9376] 165 170 175
[9377] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[9378] 180 185 190
[9379] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[9380] 195 200 205
[9381] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[9382] 210 215 220
[9383] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe
[9384] 225 230 235 240
[9385] Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile
[9386] 245 250 255
[9387] Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met
[9388] 260 265 270
[9389] Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9390] 275 280 285
[9391] <210> 459
[9392] <211> 286
[9393] <212> PRT
[9394] <213> 人工
[9395] <220>
[9396] <223> 合成序列
[9397] <400> 459

[9398] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9399] 1 5 10 15
[9400] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9401] 20 25 30
[9402] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9403] 35 40 45
[9404] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9405] 50 55 60
[9406] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9407] 65 70 75 80
[9408] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9409] 85 90 95
[9410] Ser Gln Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser
[9411] 100 105 110
[9412] Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
[9413] 115 120 125
[9414] Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu
[9415] 130 135 140
[9416] Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp
[9417] 145 150 155 160
[9418] Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val
[9419] 165 170 175
[9420] Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro
[9421] 180 185 190
[9422] Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser
[9423] 195 200 205
[9424] Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu
[9425] 210 215 220
[9426] Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg
[9427] 225 230 235 240
[9428] Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
[9429] 245 250 255
[9430] Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
[9431] 260 265 270
[9432] Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9433] 275 280 285
[9434] <210> 460
[9435] <211> 288
[9436] <212> PRT

[9437] <213> 人工

[9438] <220>

[9439] <223> 合成序列

[9440] <400> 460

[9441] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[9442] 1 5 10 15

[9443] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr

[9444] 20 25 30

[9445] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu

[9446] 35 40 45

[9447] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys

[9448] 50 55 60

[9449] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys

[9450] 65 70 75 80

[9451] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro

[9452] 85 90 95

[9453] Ser Gln Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr

[9454] 100 105 110

[9455] Pro Ser Pro Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe

[9456] 115 120 125

[9457] Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln

[9458] 130 135 140

[9459] Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala

[9460] 145 150 155 160

[9461] Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro

[9462] 165 170 175

[9463] Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln

[9464] 180 185 190

[9465] Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala

[9466] 195 200 205

[9467] Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln

[9468] 210 215 220

[9469] Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro

[9470] 225 230 235 240

[9471] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro

[9472] 245 250 255

[9473] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro

[9474] 260 265 270

[9475] Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[9476] 275 280 285

[9477] <210> 461

[9478] <211> 293

[9479] <212> PRT

[9480] <213> 人工

[9481] <220>

[9482] <223> 合成序列

[9483] <400> 461

[9484] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[9485] 1 5 10 15

[9486] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr

[9487] 20 25 30

[9488] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu

[9489] 35 40 45

[9490] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys

[9491] 50 55 60

[9492] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys

[9493] 65 70 75 80

[9494] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro

[9495] 85 90 95

[9496] Ser Gln Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys Glu Lys Glu Lys Glu Glu

[9497] 100 105 110

[9498] Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser

[9499] 115 120 125

[9500] Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr

[9501] 130 135 140

[9502] Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly

[9503] 145 150 155 160

[9504] Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu

[9505] 165 170 175

[9506] Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser

[9507] 180 185 190

[9508] Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His

[9509] 195 200 205

[9510] Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly

[9511] 210 215 220

[9512] Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly

[9513] 225 230 235 240

[9514] Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro

[9515] 245 250 255
[9516] Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val
[9517] 260 265 270
[9518] Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser
[9519] 275 280 285
[9520] Pro Ser Tyr Ala Ser
[9521] 290
[9522] <210> 462
[9523] <211> 295
[9524] <212> PRT
[9525] <213> 人工
[9526] <220>
[9527] <223> 合成序列
[9528] <400> 462
[9529] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9530] 1 5 10 15
[9531] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9532] 20 25 30
[9533] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9534] 35 40 45
[9535] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9536] 50 55 60
[9537] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9538] 65 70 75 80
[9539] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9540] 85 90 95
[9541] Ser Gln Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[9542] 100 105 110
[9543] Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp
[9544] 115 120 125
[9545] Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu
[9546] 130 135 140
[9547] Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu
[9548] 145 150 155 160
[9549] Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu
[9550] 165 170 175
[9551] Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys
[9552] 180 185 190
[9553] Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser

[9554] 195 200 205
[9555] Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu
[9556] 210 215 220
[9557] Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His
[9558] 225 230 235 240
[9559] Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu
[9560] 245 250 255
[9561] Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro
[9562] 260 265 270
[9563] Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly
[9564] 275 280 285
[9565] Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9566] 290 295
[9567] <210> 463
[9568] <211> 300
[9569] <212> PRT
[9570] <213> 人工
[9571] <220>
[9572] <223> 合成序列
[9573] <400> 463
[9574] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9575] 1 5 10 15
[9576] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9577] 20 25 30
[9578] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9579] 35 40 45
[9580] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9581] 50 55 60
[9582] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9583] 65 70 75 80
[9584] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9585] 85 90 95
[9586] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu
[9587] 100 105 110
[9588] Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
[9589] 115 120 125
[9590] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[9591] 130 135 140
[9592] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

[9593] 145 150 155 160
[9594] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[9595] 165 170 175
[9596] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[9597] 180 185 190
[9598] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[9599] 195 200 205
[9600] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[9601] 210 215 220
[9602] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[9603] 225 230 235 240
[9604] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[9605] 245 250 255
[9606] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[9607] 260 265 270
[9608] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[9609] 275 280 285
[9610] Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9611] 290 295 300
[9612] <210> 464
[9613] <211> 306
[9614] <212> PRT
[9615] <213> 人工
[9616] <220>
[9617] <223> 合成序列
[9618] <400> 464
[9619] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9620] 1 5 10 15
[9621] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9622] 20 25 30
[9623] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9624] 35 40 45
[9625] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9626] 50 55 60
[9627] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9628] 65 70 75 80
[9629] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9630] 85 90 95
[9631] Ser Gln Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr

[9632] 100 105 110
[9633] Pro Ser Pro Ser Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Thr Pro
[9634] 115 120 125
[9635] Pro Thr Pro Ser Pro Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu
[9636] 130 135 140
[9637] Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala
[9638] 145 150 155 160
[9639] Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly
[9640] 165 170 175
[9641] Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu
[9642] 180 185 190
[9643] Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu
[9644] 195 200 205
[9645] Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro
[9646] 210 215 220
[9647] Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val
[9648] 225 230 235 240
[9649] Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg
[9650] 245 250 255
[9651] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro
[9652] 260 265 270
[9653] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser
[9654] 275 280 285
[9655] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr
[9656] 290 295 300
[9657] Ala Ser
[9658] 305
[9659] <210> 465
[9660] <211> 275
[9661] <212> PRT
[9662] <213> 人工
[9663] <220>
[9664] <223> 合成序列
[9665] <400> 465
[9666] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9667] 1 5 10 15
[9668] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9669] 20 25 30
[9670] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu

[9671] 35 40 45

[9672] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys

[9673] 50 55 60

[9674] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys

[9675] 65 70 75 80

[9676] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro

[9677] 85 90 95

[9678] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu

[9679] 100 105 110

[9680] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp

[9681] 115 120 125

[9682] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val

[9683] 130 135 140

[9684] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala

[9685] 145 150 155 160

[9686] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe

[9687] 165 170 175

[9688] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp

[9689] 180 185 190

[9690] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn

[9691] 195 200 205

[9692] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly

[9693] 210 215 220

[9694] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro

[9695] 225 230 235 240

[9696] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser

[9697] 245 250 255

[9698] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser

[9699] 260 265 270

[9700] Tyr Ala Ser

[9701] 275

[9702] <210> 466

[9703] <211> 290

[9704] <212> PRT

[9705] <213> 人工

[9706] <220>

[9707] <223> 合成序列

[9708] <400> 466

[9709] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[9710] 1 5 10 15

[9711] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr

[9712] 20 25 30

[9713] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu

[9714] 35 40 45

[9715] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys

[9716] 50 55 60

[9717] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys

[9718] 65 70 75 80

[9719] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro

[9720] 85 90 95

[9721] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu

[9722] 100 105 110

[9723] Pro Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu

[9724] 115 120 125

[9725] Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala

[9726] 130 135 140

[9727] Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly

[9728] 145 150 155 160

[9729] Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu

[9730] 165 170 175

[9731] Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu

[9732] 180 185 190

[9733] Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro

[9734] 195 200 205

[9735] Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val

[9736] 210 215 220

[9737] Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg

[9738] 225 230 235 240

[9739] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro

[9740] 245 250 255

[9741] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser

[9742] 260 265 270

[9743] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr

[9744] 275 280 285

[9745] Ala Ser

[9746] 290

[9747] <210> 467

[9748] <211> 310

[9749] <212> PRT

[9750] <213> 人工

[9751] <220>

[9752] <223> 合成序列

[9753] <400> 467

[9754] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[9755] 1 5 10 15

[9756] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr

[9757] 20 25 30

[9758] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu

[9759] 35 40 45

[9760] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys

[9761] 50 55 60

[9762] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys

[9763] 65 70 75 80

[9764] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro

[9765] 85 90 95

[9766] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu

[9767] 100 105 110

[9768] Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro

[9769] 115 120 125

[9770] Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser

[9771] 130 135 140

[9772] Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr

[9773] 145 150 155 160

[9774] Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp

[9775] 165 170 175

[9776] Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln

[9777] 180 185 190

[9778] Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr

[9779] 195 200 205

[9780] Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu

[9781] 210 215 220

[9782] His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp

[9783] 225 230 235 240

[9784] Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu

[9785] 245 250 255

[9786] Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro

[9787] 260 265 270

[9788] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[9789] 275 280 285
[9790] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg
[9791] 290 295 300
[9792] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9793] 305 310
[9794] <210> 468
[9795] <211> 290
[9796] <212> PRT
[9797] <213> 人工
[9798] <220>
[9799] <223> 合成序列
[9800] <400> 468
[9801] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9802] 1 5 10 15
[9803] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9804] 20 25 30
[9805] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9806] 35 40 45
[9807] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9808] 50 55 60
[9809] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9810] 65 70 75 80
[9811] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9812] 85 90 95
[9813] Ser Gln Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[9814] 100 105 110
[9815] Pro Pro Ser Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu
[9816] 115 120 125
[9817] Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala
[9818] 130 135 140
[9819] Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly
[9820] 145 150 155 160
[9821] Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu
[9822] 165 170 175
[9823] Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu
[9824] 180 185 190
[9825] Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro
[9826] 195 200 205

[9827] Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val
[9828] 210 215 220
[9829] Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg
[9830] 225 230 235 240
[9831] Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro
[9832] 245 250 255
[9833] Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser
[9834] 260 265 270
[9835] Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr
[9836] 275 280 285
[9837] Ala Ser
[9838] 290
[9839] <210> 469
[9840] <211> 284
[9841] <212> PRT
[9842] <213> 人工
[9843] <220>
[9844] <223> 合成序列
[9845] <400> 469
[9846] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9847] 1 5 10 15
[9848] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9849] 20 25 30
[9850] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9851] 35 40 45
[9852] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9853] 50 55 60
[9854] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9855] 65 70 75 80
[9856] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9857] 85 90 95
[9858] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro Gly Gly Gly Ser Pro Thr Pro Glu Pro
[9859] 100 105 110
[9860] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[9861] 115 120 125
[9862] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[9863] 130 135 140
[9864] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[9865] 145 150 155 160

[9866] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[9867] 165 170 175
[9868] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[9869] 180 185 190
[9870] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[9871] 195 200 205
[9872] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[9873] 210 215 220
[9874] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[9875] 225 230 235 240
[9876] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[9877] 245 250 255
[9878] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[9879] 260 265 270
[9880] Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9881] 275 280
[9882] <210> 470
[9883] <211> 284
[9884] <212> PRT
[9885] <213> 人工
[9886] <220>
[9887] <223> 合成序列
[9888] <400> 470
[9889] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9890] 1 5 10 15
[9891] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9892] 20 25 30
[9893] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9894] 35 40 45
[9895] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9896] 50 55 60
[9897] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9898] 65 70 75 80
[9899] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9900] 85 90 95
[9901] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro Glu Glu Glu Asp Pro Thr Pro Glu Pro
[9902] 100 105 110
[9903] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val
[9904] 115 120 125

[9905] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His
[9906] 130 135 140
[9907] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser
[9908] 145 150 155 160
[9909] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln
[9910] 165 170 175
[9911] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly
[9912] 180 185 190
[9913] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg
[9914] 195 200 205
[9915] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His
[9916] 210 215 220
[9917] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu
[9918] 225 230 235 240
[9919] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu
[9920] 245 250 255
[9921] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val
[9922] 260 265 270
[9923] Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9924] 275 280
[9925] <210> 471
[9926] <211> 294
[9927] <212> PRT
[9928] <213> 人工
[9929] <220>
[9930] <223> 合成序列
[9931] <400> 471
[9932] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9933] 1 5 10 15
[9934] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9935] 20 25 30
[9936] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9937] 35 40 45
[9938] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9939] 50 55 60
[9940] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9941] 65 70 75 80
[9942] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9943] 85 90 95

[9944] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Glu Glu Glu Asp
[9945] 100 105 110
[9946] Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser
[9947] 115 120 125
[9948] Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr
[9949] 130 135 140
[9950] Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp
[9951] 145 150 155 160
[9952] Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln
[9953] 165 170 175
[9954] Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr
[9955] 180 185 190
[9956] Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu
[9957] 195 200 205
[9958] His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp
[9959] 210 215 220
[9960] Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu
[9961] 225 230 235 240
[9962] Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro
[9963] 245 250 255
[9964] Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp
[9965] 260 265 270
[9966] Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg
[9967] 275 280 285
[9968] Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[9969] 290
[9970] <210> 472
[9971] <211> 304
[9972] <212> PRT
[9973] <213> 人工
[9974] <220>
[9975] <223> 合成序列
[9976] <400> 472
[9977] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[9978] 1 5 10 15
[9979] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[9980] 20 25 30
[9981] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[9982] 35 40 45

[9983] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[9984] 50 55 60
[9985] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[9986] 65 70 75 80
[9987] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[9988] 85 90 95
[9989] Ser Gln Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[9990] 100 105 110
[9991] Pro Glu Glu Glu Asp Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro
[9992] 115 120 125
[9993] Ser Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe
[9994] 130 135 140
[9995] Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln
[9996] 145 150 155 160
[9997] Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala
[9998] 165 170 175
[9999] Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro
[10000] 180 185 190
[10001] Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln
[10002] 195 200 205
[10003] Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala
[10004] 210 215 220
[10005] Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln
[10006] 225 230 235 240
[10007] Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro
[10008] 245 250 255
[10009] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro
[10010] 260 265 270
[10011] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro
[10012] 275 280 285
[10013] Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10014] 290 295 300
[10015] <210> 473
[10016] <211> 305
[10017] <212> PRT
[10018] <213> 人工
[10019] <220>
[10020] <223> 合成序列
[10021] <400> 473

[10022] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro
[10023] 1 5 10 15
[10024] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr
[10025] 20 25 30
[10026] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu
[10027] 35 40 45
[10028] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys
[10029] 50 55 60
[10030] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys
[10031] 65 70 75 80
[10032] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro
[10033] 85 90 95
[10034] Ser Gln Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[10035] 100 105 110
[10036] Pro Gly Gly Gly Gly Ser Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro
[10037] 115 120 125
[10038] Pro Ser Pro Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln
[10039] 130 135 140
[10040] Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln
[10041] 145 150 155 160
[10042] Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly
[10043] 165 170 175
[10044] Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys
[10045] 180 185 190
[10046] Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys
[10047] 195 200 205
[10048] Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu
[10049] 210 215 220
[10050] Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr
[10051] 225 230 235 240
[10052] Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly
[10053] 245 250 255
[10054] Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu
[10055] 260 265 270
[10056] Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp
[10057] 275 280 285
[10058] Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
[10059] 290 295 300
[10060] Ser

[10061] 305

[10062] <210> 474

[10063] <211> 296

[10064] <212> PRT

[10065] <213> 人工

[10066] <220>

[10067] <223> 合成序列

[10068] <400> 474

[10069] Gly Val Ser Asp Val Pro Arg Asp Leu Glu Val Val Ala Ala Thr Pro

[10070] 1 5 10 15

[10071] Thr Ser Leu Leu Ile Ser Trp His Ser Tyr Tyr Glu Gln Asn Ser Tyr

[10072] 20 25 30

[10073] Tyr Arg Ile Thr Tyr Gly Glu Thr Gly Gly Asn Ser Pro Val Gln Glu

[10074] 35 40 45

[10075] Phe Thr Val Pro Tyr Ser Gln Thr Thr Ala Thr Ile Ser Gly Leu Lys

[10076] 50 55 60

[10077] Pro Gly Val Asp Tyr Thr Ile Thr Val Tyr Ala Val Tyr Gly Ser Lys

[10078] 65 70 75 80

[10079] Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser Ile Asn Tyr Arg Thr Glu Ile Glu Lys Pro

[10080] 85 90 95

[10081] Ser Gln Pro Ser Pro Glu Pro Thr Pro Glu Pro Ser Pro Glu Pro Pro

[10082] 100 105 110

[10083] Thr Pro Glu Pro Ser Pro Glu Pro Thr Pro Glu Pro His Pro Ile Pro

[10084] 115 120 125

[10085] Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr

[10086] 130 135 140

[10087] Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg

[10088] 145 150 155 160

[10089] Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu

[10090] 165 170 175

[10091] Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val

[10092] 180 185 190

[10093] Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly

[10094] 195 200 205

[10095] Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu

[10096] 210 215 220

[10097] Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu

[10098] 225 230 235 240

[10099] His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly

[10100] 245 250 255
[10101] Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro
[10102] 260 265 270
[10103] Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln
[10104] 275 280 285
[10105] Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10106] 290 295
[10107] <210> 475
[10108] <211> 414
[10109] <212> PRT
[10110] <213> 人工
[10111] <220>
[10112] <223> 合成序列
[10113] <400> 475
[10114] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10115] 1 5 10 15
[10116] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10117] 20 25 30
[10118] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10119] 35 40 45
[10120] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10121] 50 55 60
[10122] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10123] 65 70 75 80
[10124] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10125] 85 90 95
[10126] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10127] 100 105 110
[10128] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10129] 115 120 125
[10130] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10131] 130 135 140
[10132] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10133] 145 150 155 160
[10134] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10135] 165 170 175
[10136] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10137] 180 185 190
[10138] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[10139] 195 200 205
[10140] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10141] 210 215 220
[10142] Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[10143] 225 230 235 240
[10144] Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
[10145] 245 250 255
[10146] Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu
[10147] 260 265 270
[10148] Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp
[10149] 275 280 285
[10150] Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val
[10151] 290 295 300
[10152] Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro
[10153] 305 310 315 320
[10154] Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser
[10155] 325 330 335
[10156] Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu
[10157] 340 345 350
[10158] Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg
[10159] 355 360 365
[10160] Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
[10161] 370 375 380
[10162] Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
[10163] 385 390 395 400
[10164] Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10165] 405 410
[10166] <210> 476
[10167] <211> 427
[10168] <212> PRT
[10169] <213> 人工
[10170] <220>
[10171] <223> 合成序列
[10172] <400> 476
[10173] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10174] 1 5 10 15
[10175] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10176] 20 25 30
[10177] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

[10178] 35 40 45
[10179] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10180] 50 55 60
[10181] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10182] 65 70 75 80
[10183] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10184] 85 90 95
[10185] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10186] 100 105 110
[10187] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10188] 115 120 125
[10189] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10190] 130 135 140
[10191] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10192] 145 150 155 160
[10193] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10194] 165 170 175
[10195] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10196] 180 185 190
[10197] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10198] 195 200 205
[10199] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10200] 210 215 220
[10201] Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
[10202] 225 230 235 240
[10203] Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser His
[10204] 245 250 255
[10205] Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg
[10206] 260 265 270
[10207] Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu
[10208] 275 280 285
[10209] Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro
[10210] 290 295 300
[10211] Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile
[10212] 305 310 315 320
[10213] Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala
[10214] 325 330 335
[10215] Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu
[10216] 340 345 350

[10217] Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly
[10218] 355 360 365
[10219] Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro
[10220] 370 375 380
[10221] Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala
[10222] 385 390 395 400
[10223] Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu
[10224] 405 410 415
[10225] Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10226] 420 425
[10227] <210> 477
[10228] <211> 429
[10229] <212> PRT
[10230] <213> 人工
[10231] <220>
[10232] <223> 合成序列
[10233] <400> 477
[10234] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10235] 1 5 10 15
[10236] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10237] 20 25 30
[10238] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10239] 35 40 45
[10240] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10241] 50 55 60
[10242] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10243] 65 70 75 80
[10244] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10245] 85 90 95
[10246] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10247] 100 105 110
[10248] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10249] 115 120 125
[10250] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10251] 130 135 140
[10252] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10253] 145 150 155 160
[10254] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10255] 165 170 175

[10256] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10257] 180 185 190
[10258] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10259] 195 200 205
[10260] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10261] 210 215 220
[10262] Pro Gly Lys Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro
[10263] 225 230 235 240
[10264] Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu
[10265] 245 250 255
[10266] Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln
[10267] 260 265 270
[10268] Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala
[10269] 275 280 285
[10270] His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln
[10271] 290 295 300
[10272] Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile
[10273] 305 310 315 320
[10274] Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp
[10275] 325 330 335
[10276] Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe
[10277] 340 345 350
[10278] Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala
[10279] 355 360 365
[10280] His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe
[10281] 370 375 380
[10282] Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile
[10283] 385 390 395 400
[10284] Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met
[10285] 405 410 415
[10286] Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10287] 420 425
[10288] <210> 478
[10289] <211> 414
[10290] <212> PRT
[10291] <213> 人工
[10292] <220>
[10293] <223> 合成序列
[10294] <400> 478

[10295] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10296] 1 5 10 15
[10297] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10298] 20 25 30
[10299] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10300] 35 40 45
[10301] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10302] 50 55 60
[10303] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10304] 65 70 75 80
[10305] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10306] 85 90 95
[10307] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10308] 100 105 110
[10309] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10310] 115 120 125
[10311] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10312] 130 135 140
[10313] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10314] 145 150 155 160
[10315] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10316] 165 170 175
[10317] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10318] 180 185 190
[10319] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10320] 195 200 205
[10321] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10322] 210 215 220
[10323] Pro Gly Lys Pro Ser Pro Glu Pro Pro Thr Pro Glu Pro Pro Ser Pro
[10324] 225 230 235 240
[10325] Glu Pro His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
[10326] 245 250 255
[10327] Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu
[10328] 260 265 270
[10329] Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp
[10330] 275 280 285
[10331] Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val
[10332] 290 295 300
[10333] Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro

[10334] 305 310 315 320
[10335] Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser
[10336] 325 330 335
[10337] Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu
[10338] 340 345 350
[10339] Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg
[10340] 355 360 365
[10341] Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
[10342] 370 375 380
[10343] Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
[10344] 385 390 395 400
[10345] Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10346] 405 410
[10347] <210> 479
[10348] <211> 411
[10349] <212> PRT
[10350] <213> 人工
[10351] <220>
[10352] <223> 合成序列
[10353] <400> 479
[10354] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10355] 1 5 10 15
[10356] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10357] 20 25 30
[10358] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10359] 35 40 45
[10360] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10361] 50 55 60
[10362] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10363] 65 70 75 80
[10364] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10365] 85 90 95
[10366] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10367] 100 105 110
[10368] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10369] 115 120 125
[10370] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10371] 130 135 140
[10372] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[10373] 145 150 155 160
[10374] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10375] 165 170 175
[10376] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10377] 180 185 190
[10378] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10379] 195 200 205
[10380] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10381] 210 215 220
[10382] Pro Gly Lys Gly Ser His His His His His His His His His Gly Ser His
[10383] 225 230 235 240
[10384] Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg
[10385] 245 250 255
[10386] Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu
[10387] 260 265 270
[10388] Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro
[10389] 275 280 285
[10390] Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile
[10391] 290 295 300
[10392] Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala
[10393] 305 310 315 320
[10394] Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu
[10395] 325 330 335
[10396] Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly
[10397] 340 345 350
[10398] Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro
[10399] 355 360 365
[10400] Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala
[10401] 370 375 380
[10402] Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu
[10403] 385 390 395 400
[10404] Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10405] 405 410
[10406] <210> 480
[10407] <211> 416
[10408] <212> PRT
[10409] <213> 人工
[10410] <220>
[10411] <223> 合成序列

[10412] <400> 480

[10413] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10414] 1 5 10 15
[10415] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10416] 20 25 30
[10417] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10418] 35 40 45
[10419] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10420] 50 55 60
[10421] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10422] 65 70 75 80
[10423] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10424] 85 90 95
[10425] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10426] 100 105 110
[10427] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10428] 115 120 125
[10429] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10430] 130 135 140
[10431] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10432] 145 150 155 160
[10433] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10434] 165 170 175
[10435] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10436] 180 185 190
[10437] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10438] 195 200 205
[10439] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10440] 210 215 220
[10441] Pro Gly Lys Glu Leu Gln Leu Glu Glu Ser Ala Ala Glu Ala Gln Glu
[10442] 225 230 235 240
[10443] Gly Glu Leu Glu His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe
[10444] 245 250 255
[10445] Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln
[10446] 260 265 270
[10447] Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala
[10448] 275 280 285
[10449] Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro
[10450] 290 295 300

[10451] Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln
[10452] 305 310 315 320
[10453] Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala
[10454] 325 330 335
[10455] Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln
[10456] 340 345 350
[10457] Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro
[10458] 355 360 365
[10459] Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro
[10460] 370 375 380
[10461] Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro
[10462] 385 390 395 400
[10463] Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10464] 405 410 415
[10465] <210> 481
[10466] <211> 415
[10467] <212> PRT
[10468] <213> 人工
[10469] <220>
[10470] <223> 合成序列
[10471] <400> 481
[10472] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10473] 1 5 10 15
[10474] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10475] 20 25 30
[10476] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10477] 35 40 45
[10478] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10479] 50 55 60
[10480] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10481] 65 70 75 80
[10482] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10483] 85 90 95
[10484] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10485] 100 105 110
[10486] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10487] 115 120 125
[10488] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10489] 130 135 140

[10490] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10491] 145 150 155 160
[10492] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10493] 165 170 175
[10494] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10495] 180 185 190
[10496] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10497] 195 200 205
[10498] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10499] 210 215 220
[10500] Pro Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[10501] 225 230 235 240
[10502] Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly
[10503] 245 250 255
[10504] Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr
[10505] 260 265 270
[10506] Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala
[10507] 275 280 285
[10508] Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly
[10509] 290 295 300
[10510] Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg
[10511] 305 310 315 320
[10512] Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys
[10513] 325 330 335
[10514] Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser
[10515] 340 345 350
[10516] Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala
[10517] 355 360 365
[10518] Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro
[10519] 370 375 380
[10520] Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu
[10521] 385 390 395 400
[10522] Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10523] 405 410 415
[10524] <210> 482
[10525] <211> 414
[10526] <212> PRT
[10527] <213> 人工
[10528] <220>

[10529] <223> 合成序列

[10530] <400> 482

[10531] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10532] 1 5 10 15
[10533] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10534] 20 25 30
[10535] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10536] 35 40 45
[10537] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10538] 50 55 60
[10539] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10540] 65 70 75 80
[10541] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10542] 85 90 95
[10543] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10544] 100 105 110
[10545] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10546] 115 120 125
[10547] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10548] 130 135 140
[10549] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10550] 145 150 155 160
[10551] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10552] 165 170 175
[10553] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10554] 180 185 190
[10555] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10556] 195 200 205
[10557] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10558] 210 215 220
[10559] Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[10560] 225 230 235 240
[10561] Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
[10562] 245 250 255
[10563] Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu
[10564] 260 265 270
[10565] Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp
[10566] 275 280 285
[10567] Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val

[10568] 290 295 300
[10569] Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro
[10570] 305 310 315 320
[10571] Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser
[10572] 325 330 335
[10573] Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu
[10574] 340 345 350
[10575] Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg
[10576] 355 360 365
[10577] Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
[10578] 370 375 380
[10579] Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
[10580] 385 390 395 400
[10581] Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10582] 405 410
[10583] <210> 483
[10584] <211> 412
[10585] <212> PRT
[10586] <213> 人工
[10587] <220>
[10588] <223> 合成序列
[10589] <400> 483
[10590] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10591] 1 5 10 15
[10592] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10593] 20 25 30
[10594] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10595] 35 40 45
[10596] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10597] 50 55 60
[10598] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10599] 65 70 75 80
[10600] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10601] 85 90 95
[10602] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10603] 100 105 110
[10604] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10605] 115 120 125
[10606] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[10607] 130 135 140

[10608] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[10609] 145 150 155 160

[10610] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[10611] 165 170 175

[10612] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[10613] 180 185 190

[10614] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[10615] 195 200 205

[10616] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[10617] 210 215 220

[10618] Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

[10619] 225 230 235 240

[10620] His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val

[10621] 245 250 255

[10622] Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu Ala His

[10623] 260 265 270

[10624] Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser

[10625] 275 280 285

[10626] Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln

[10627] 290 295 300

[10628] Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly

[10629] 305 310 315 320

[10630] Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg

[10631] 325 330 335

[10632] Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu Ala His

[10633] 340 345 350

[10634] Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu

[10635] 355 360 365

[10636] Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu

[10637] 370 375 380

[10638] Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser Met Val

[10639] 385 390 395 400

[10640] Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser

[10641] 405 410

[10642] <210> 484

[10643] <211> 413

[10644] <212> PRT

[10645] <213> 人工

[10646] <220>

[10647] <223> 合成序列

[10648] <400> 484

[10649] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

[10650] 1 5 10 15

[10651] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met

[10652] 20 25 30

[10653] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His

[10654] 35 40 45

[10655] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val

[10656] 50 55 60

[10657] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr

[10658] 65 70 75 80

[10659] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly

[10660] 85 90 95

[10661] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile

[10662] 100 105 110

[10663] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val

[10664] 115 120 125

[10665] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser

[10666] 130 135 140

[10667] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu

[10668] 145 150 155 160

[10669] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro

[10670] 165 170 175

[10671] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val

[10672] 180 185 190

[10673] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met

[10674] 195 200 205

[10675] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser

[10676] 210 215 220

[10677] Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly

[10678] 225 230 235 240

[10679] Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly

[10680] 245 250 255

[10681] Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu

[10682] 260 265 270

[10683] Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp

[10684] 275 280 285

[10685] Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val
[10686] 290 295 300
[10687] Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro
[10688] 305 310 315 320
[10689] Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser
[10690] 325 330 335
[10691] Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu
[10692] 340 345 350
[10693] Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg
[10694] 355 360 365
[10695] Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
[10696] 370 375 380
[10697] Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
[10698] 385 390 395 400
[10699] Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala
[10700] 405 410
[10701] <210> 485
[10702] <211> 411
[10703] <212> PRT
[10704] <213> 人工
[10705] <220>
[10706] <223> 合成序列
[10707] <400> 485
[10708] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10709] 1 5 10 15
[10710] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10711] 20 25 30
[10712] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10713] 35 40 45
[10714] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10715] 50 55 60
[10716] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10717] 65 70 75 80
[10718] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10719] 85 90 95
[10720] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10721] 100 105 110
[10722] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10723] 115 120 125

[10724] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10725] 130 135 140
[10726] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10727] 145 150 155 160
[10728] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10729] 165 170 175
[10730] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10731] 180 185 190
[10732] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10733] 195 200 205
[10734] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10735] 210 215 220
[10736] Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[10737] 225 230 235 240
[10738] Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
[10739] 245 250 255
[10740] Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu
[10741] 260 265 270
[10742] Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp
[10743] 275 280 285
[10744] Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val
[10745] 290 295 300
[10746] Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro
[10747] 305 310 315 320
[10748] Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser
[10749] 325 330 335
[10750] Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu
[10751] 340 345 350
[10752] Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg
[10753] 355 360 365
[10754] Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
[10755] 370 375 380
[10756] Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
[10757] 385 390 395 400
[10758] Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
[10759] 405 410
[10760] <210> 486
[10761] <211> 419
[10762] <212> PRT

[10763] <213> 人工

[10764] <220>

[10765] <223> 合成序列

[10766] <400> 486

[10767] Glu Pro Lys Ser Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

[10768] 1 5 10 15

[10769] Pro Glu Ala Glu Gly Ala Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro

[10770] 20 25 30

[10771] Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val

[10772] 35 40 45

[10773] Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val

[10774] 50 55 60

[10775] Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln

[10776] 65 70 75 80

[10777] Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln

[10778] 85 90 95

[10779] Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

[10780] 100 105 110

[10781] Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro

[10782] 115 120 125

[10783] Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr

[10784] 130 135 140

[10785] Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser

[10786] 145 150 155 160

[10787] Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr

[10788] 165 170 175

[10789] Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr

[10790] 180 185 190

[10791] Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe

[10792] 195 200 205

[10793] Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys

[10794] 210 215 220

[10795] Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly

[10796] 225 230 235 240

[10797] Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu

[10798] 245 250 255

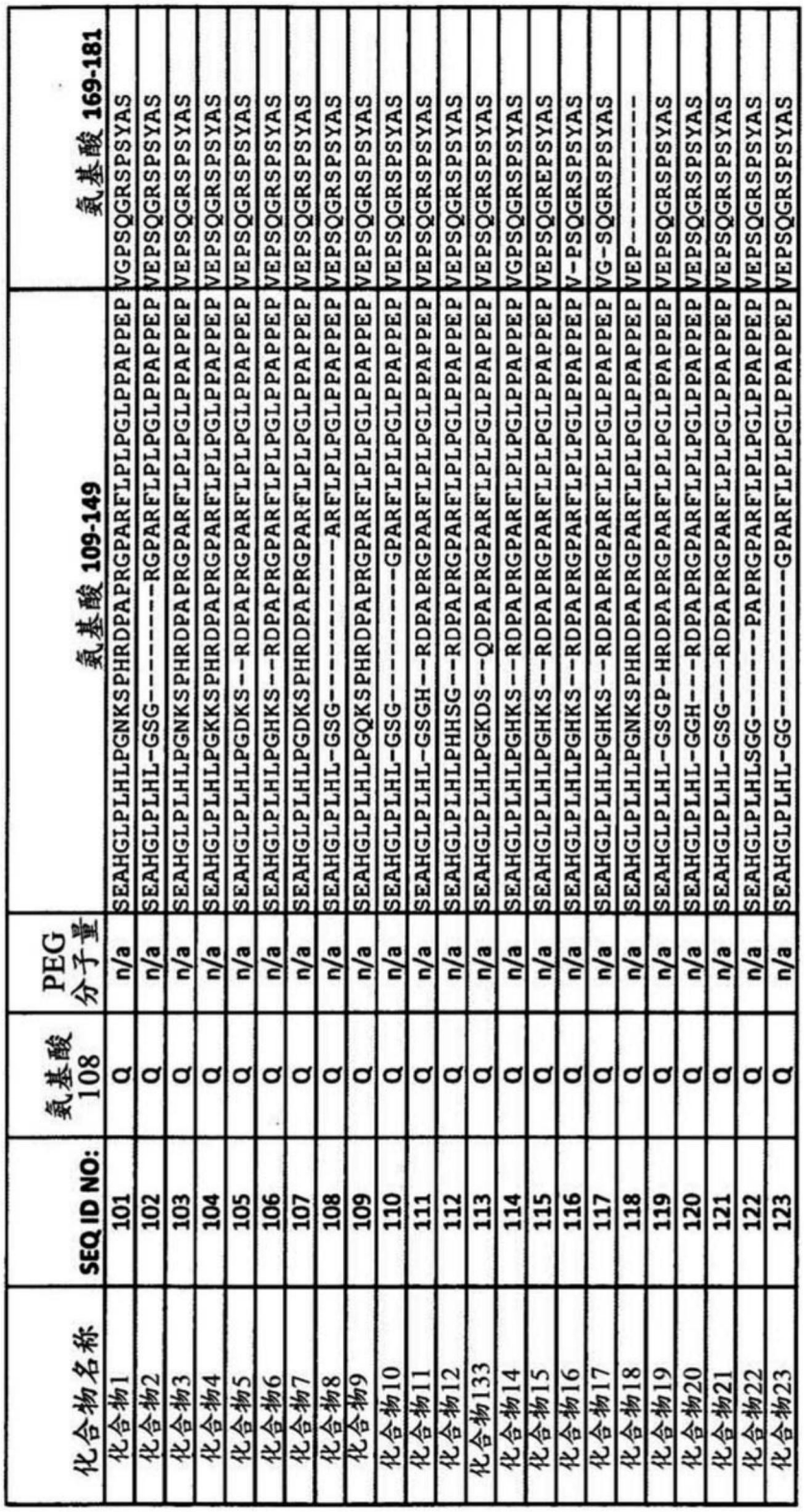
[10799] Leu Gln Phe Gly Gly Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp

[10800] 260 265 270

[10801] Ala Gln Gln Thr Glu Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val

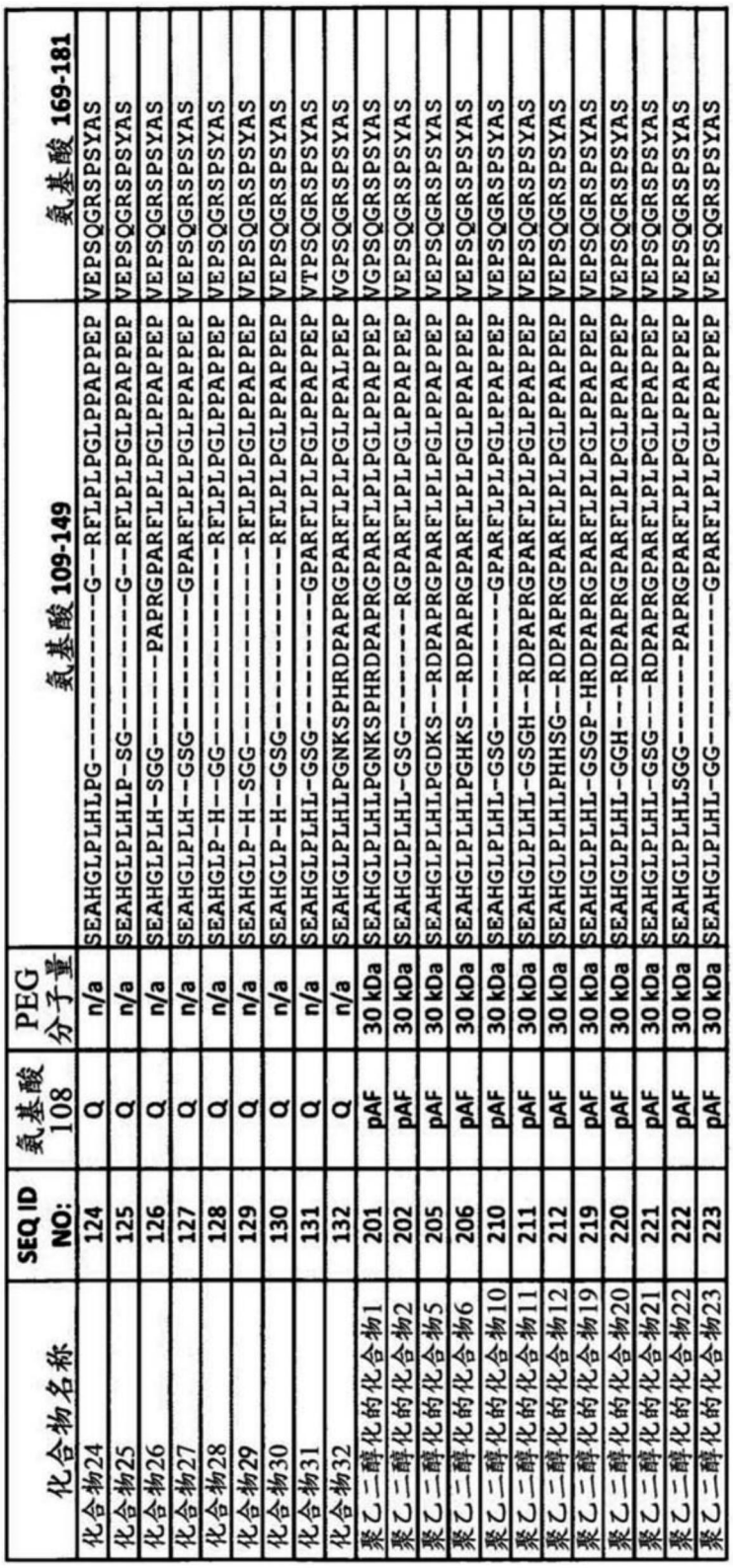
[10802] 275 280 285
[10803] Gly Gly Ala Ala Asp Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala
[10804] 290 295 300
[10805] Leu Lys Pro Gly Val Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe
[10806] 305 310 315 320
[10807] Leu Cys Gln Arg Pro Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp
[10808] 325 330 335
[10809] Pro Glu Ala Cys Ser Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn
[10810] 340 345 350
[10811] Val Tyr Gln Ser Glu Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly
[10812] 355 360 365
[10813] Arg Gly Pro Ala Arg Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro
[10814] 370 375 380
[10815] Pro Glu Pro Pro Gly Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser
[10816] 385 390 395 400
[10817] Ser Asp Pro Leu Ser Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser
[10818] 405 410 415
[10819] Tyr Ala Ser
[10820] <210> 487
[10821] <211> 414
[10822] <212> PRT
[10823] <213> 人工
[10824] <220>
[10825] <223> 合成序列
[10826] <400> 487
[10827] Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[10828] 1 5 10 15
[10829] Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[10830] 20 25 30
[10831] Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[10832] 35 40 45
[10833] Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[10834] 50 55 60
[10835] His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[10836] 65 70 75 80
[10837] Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[10838] 85 90 95
[10839] Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[10840] 100 105 110

[10841] Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[10842] 115 120 125
[10843] Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser
[10844] 130 135 140
[10845] Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[10846] 145 150 155 160
[10847] Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[10848] 165 170 175
[10849] Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[10850] 180 185 190
[10851] Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[10852] 195 200 205
[10853] His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[10854] 210 215 220
[10855] Pro Gly Lys Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
[10856] 225 230 235 240
[10857] Gly Ser His Pro Ile Pro Asp Ser Ser Pro Leu Leu Gln Phe Gly Gly
[10858] 245 250 255
[10859] Gln Val Arg Gln Arg Tyr Leu Tyr Thr Asp Asp Ala Gln Gln Thr Glu
[10860] 260 265 270
[10861] Ala His Leu Glu Ile Arg Glu Asp Gly Thr Val Gly Gly Ala Ala Asp
[10862] 275 280 285
[10863] Gln Ser Pro Glu Ser Leu Leu Gln Leu Lys Ala Leu Lys Pro Gly Val
[10864] 290 295 300
[10865] Ile Gln Ile Leu Gly Val Lys Thr Ser Arg Phe Leu Cys Gln Arg Pro
[10866] 305 310 315 320
[10867] Asp Gly Ala Leu Tyr Gly Ser Leu His Phe Asp Pro Glu Ala Cys Ser
[10868] 325 330 335
[10869] Phe Arg Glu Leu Leu Leu Glu Asp Gly Tyr Asn Val Tyr Gln Ser Glu
[10870] 340 345 350
[10871] Ala His Gly Leu Pro Leu His Leu Gly Ser Gly Arg Gly Pro Ala Arg
[10872] 355 360 365
[10873] Phe Leu Pro Leu Pro Gly Leu Pro Pro Ala Pro Pro Glu Pro Pro Gly
[10874] 370 375 380
[10875] Ile Leu Ala Pro Gln Pro Pro Asp Val Gly Ser Ser Asp Pro Leu Ser
[10876] 385 390 395 400
[10877] Met Val Glu Pro Ser Gln Gly Arg Ser Pro Ser Tyr Ala Ser
[10878] 405 410



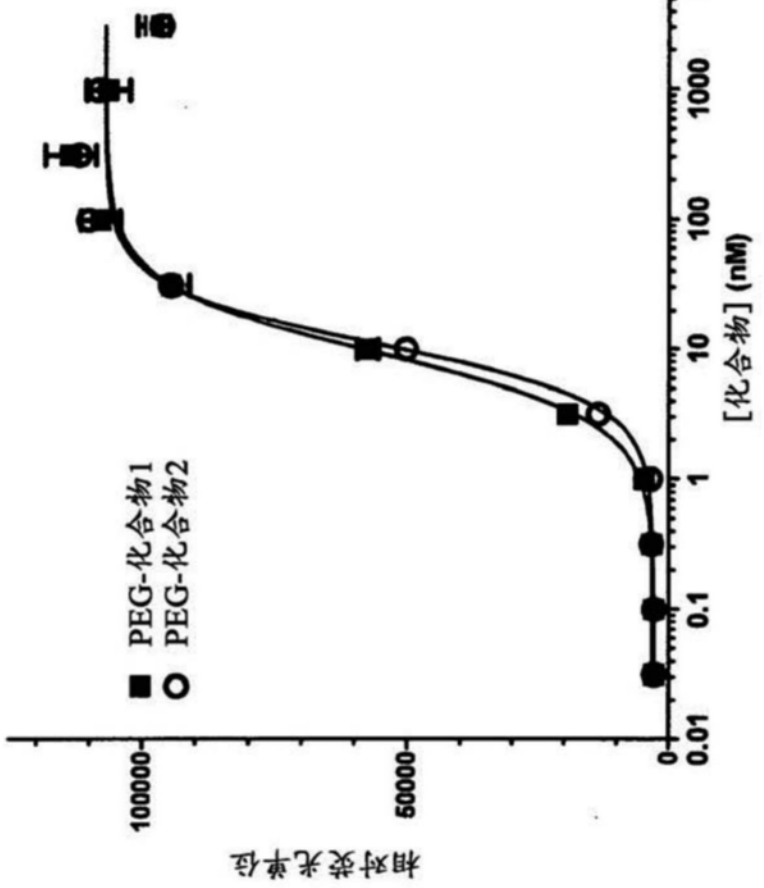
化合物名称	SEQ ID NO:	氨基酸 108	PEG 分子量	氨基酸 109-149	氨基酸 169-181
化合物1	101	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VGPSQGRSPSYAS
化合物2	102	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GSG--------RGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物3	103	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物4	104	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGKKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物5	105	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGDKS--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物6	106	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGHKS--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物7	107	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGDKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物8	108	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GSG----------ARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物9	109	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGQKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物10	110	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GSG----------GPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物11	111	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GSGH--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物12	112	Q	n/a	SEAHGLPLHLPHHSG--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物133	113	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGKDS--QDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物14	114	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGHKS--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VGPSQGRSPSYAS
化合物15	115	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGHKS--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGREPSYAS
化合物16	116	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGHKS--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	V-PSQGRSPSYAS
化合物17	117	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGHKS--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VG-SQGRSPSYAS
化合物18	118	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEP----------
化合物19	119	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GSGP-HRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物20	120	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GGH---RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物21	121	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GSG---RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物22	122	Q	n/a	SEAHGLPLHLSGG-------PAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物23	123	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GG----------GPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS

图1A



化合物名称	SEQ ID NO:	氨基酸 108	PEG 分子量	氨基酸 109-149	氨基酸 169-181
化合物24	124	Q	n/a	SEAHGLPLHLPG----------G--RFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物25	125	Q	n/a	SEAHGLPLHLP-SG----------G--RFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物26	126	Q	n/a	SEAHGLPLH-SGG-----PAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物27	127	Q	n/a	SEAHGLPLH--GSG----------GPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物28	128	Q	n/a	SEAHGLP-H--GG----------RFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物29	129	Q	n/a	SEAHGLP-H-SGG----------RFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物30	130	Q	n/a	SEAHGLP-H--GSG----------RFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
化合物31	131	Q	n/a	SEAHGLPLHL-GSG----------GPARFLPLPGLPPAPPEP	VTPSQGRSPSYAS
化合物32	132	Q	n/a	SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPALPEP	VGPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物1	201	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHLPGNKSPHRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VGPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物2	202	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHL-GSG----------RGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物5	205	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHLPGDKS--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物6	206	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHLPGHKS--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物10	210	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHL-GSG----------GPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物11	211	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHL-GSGH--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物12	212	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHLPHHSG--RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物19	219	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHL-GSGP-HRDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物20	220	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHL-GGH---RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物21	221	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHL-GSG---RDPAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物22	222	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHLSGG-----PAPRGPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS
聚乙二醇化的化合物23	223	pAF	30 kDa	SEAHGLPLHL-GG----------GPARFLPLPGLPPAPPEP	VEPSQGRSPSYAS

图1B



概括数据 (n=4)

参数	PEG-化合物1	PEG-化合物2
均值 pEC_{50} ± S.D. (M)	7.85 ± 0.26	7.74 ± 0.28
几何均值 EC_{50} (95% CI) (nM)	14 (5 - 37)	18 (6 - 51)

图2

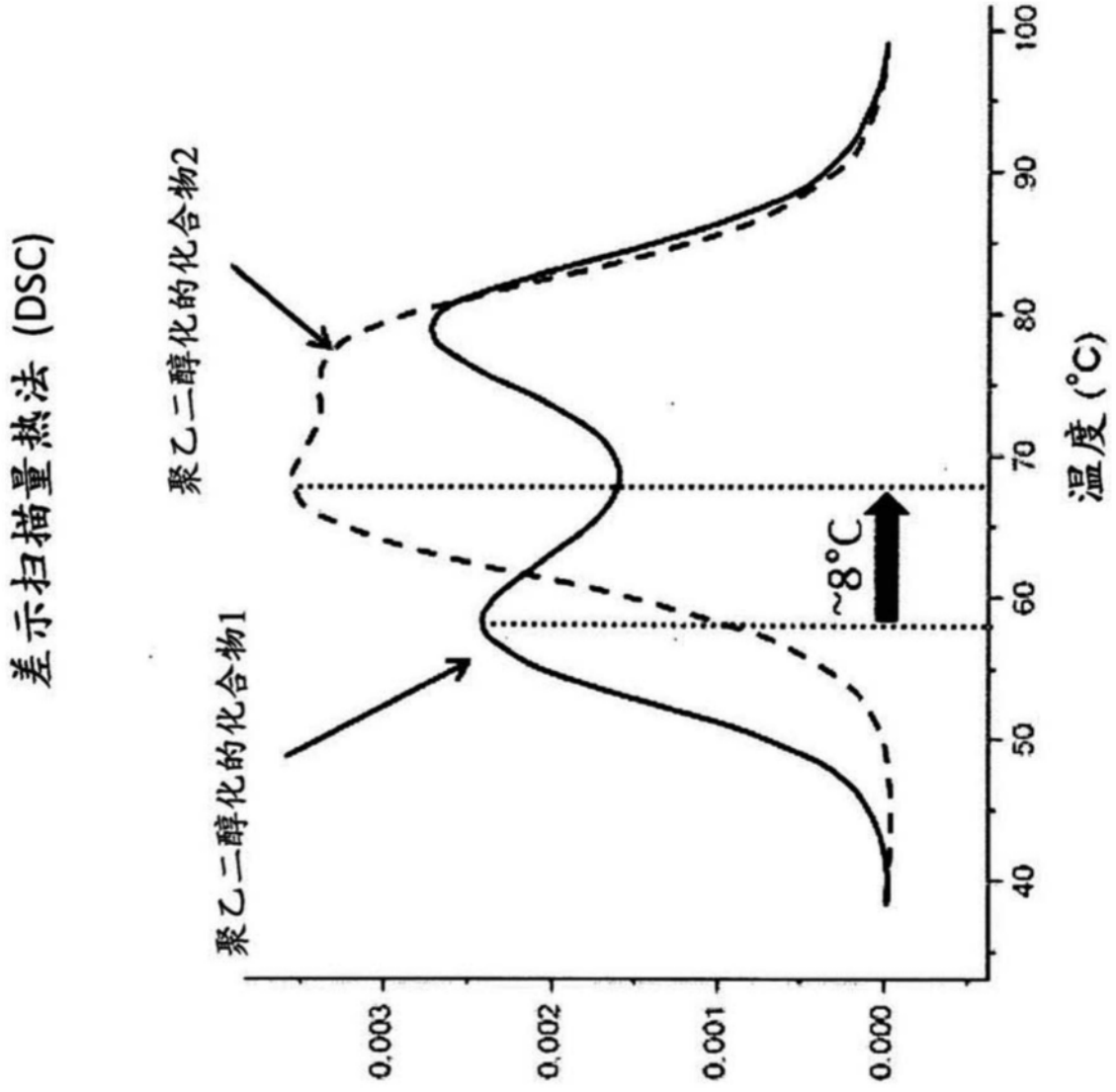

差示扫描量热法 (DSC)
聚乙二醇化的化合物2
聚乙二醇化的化合物1
~8°C
0.003
0.002
0.001
0.000
40
50
60
70
80
90
100
温度 (°C)

图3

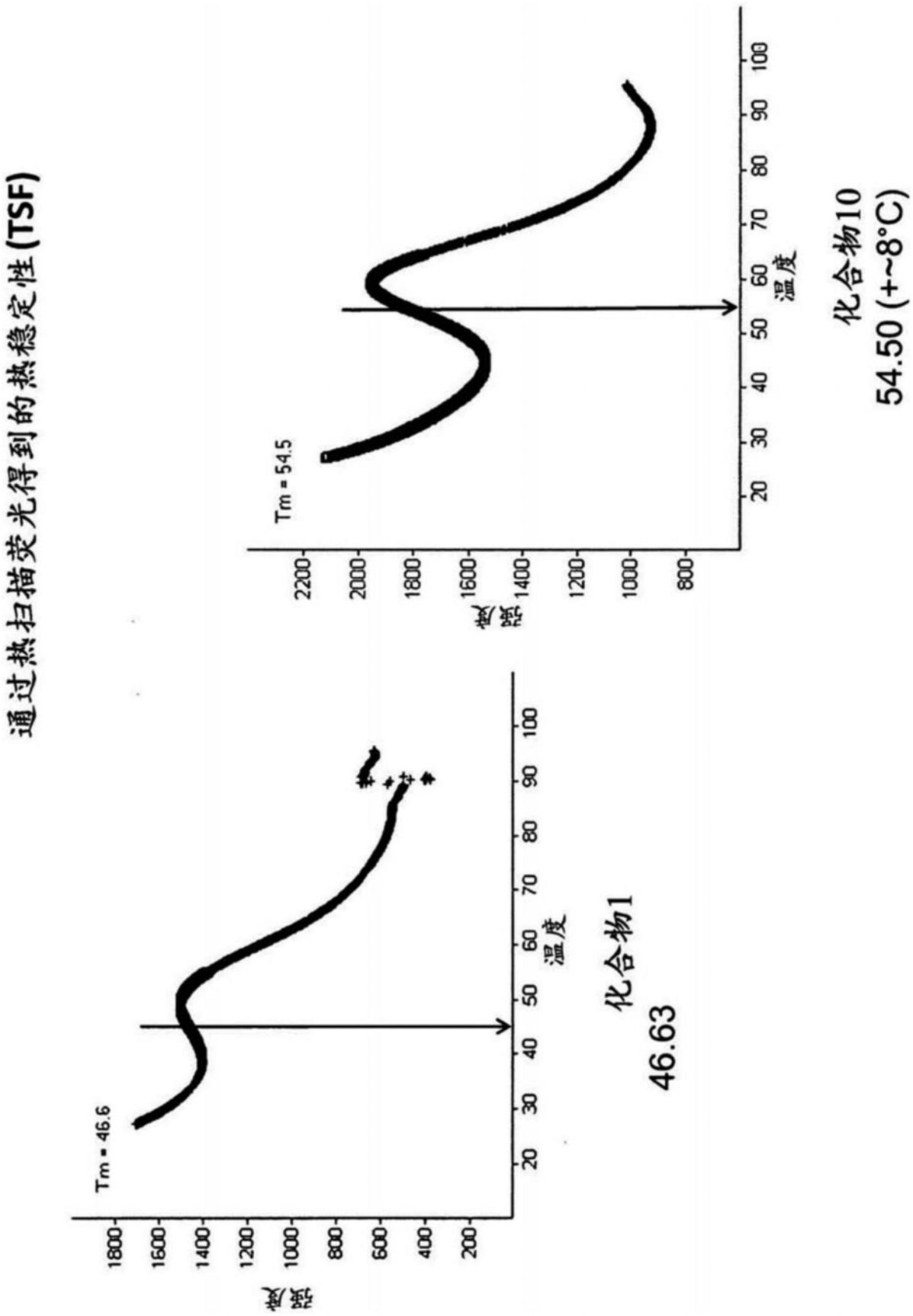

通过热扫描荧光得到的热稳定性(TSF)
Tm = 46.6
Tm = 54.5
荧光
温度
化合物1
46.63
化合物10
54.50 (+~8°C)

图4

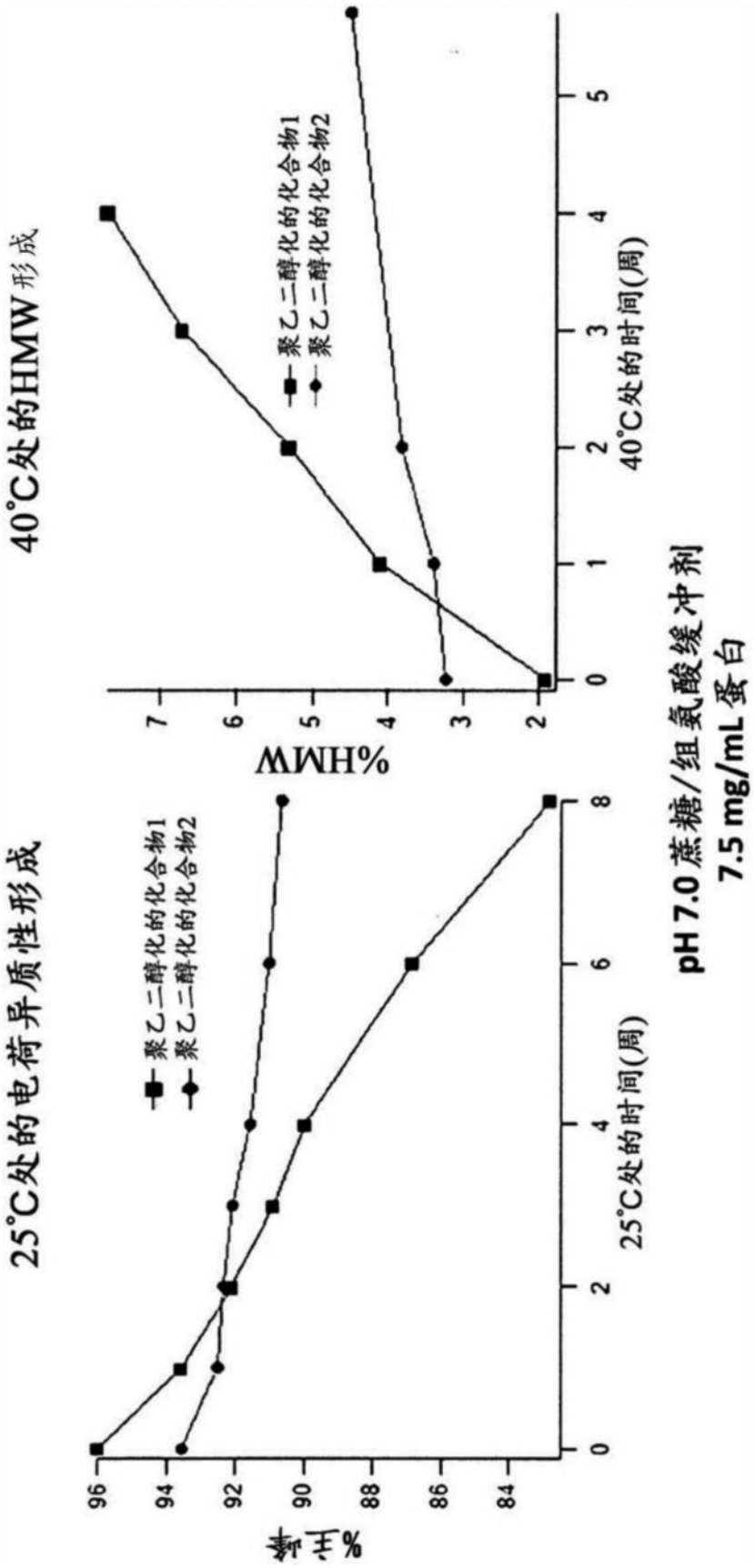

40°C处的HMW形成
聚乙二醇化的化合物1
聚乙二醇化的化合物2
%HMW
40°C处的时间(周)
25°C处的电荷异质性形成
聚乙二醇化的化合物1
聚乙二醇化的化合物2
%主峰
25°C处的时间(周)
pH 7.0 蔗糖/组氨酸缓冲剂
7.5 mg/mL 蛋白

图5

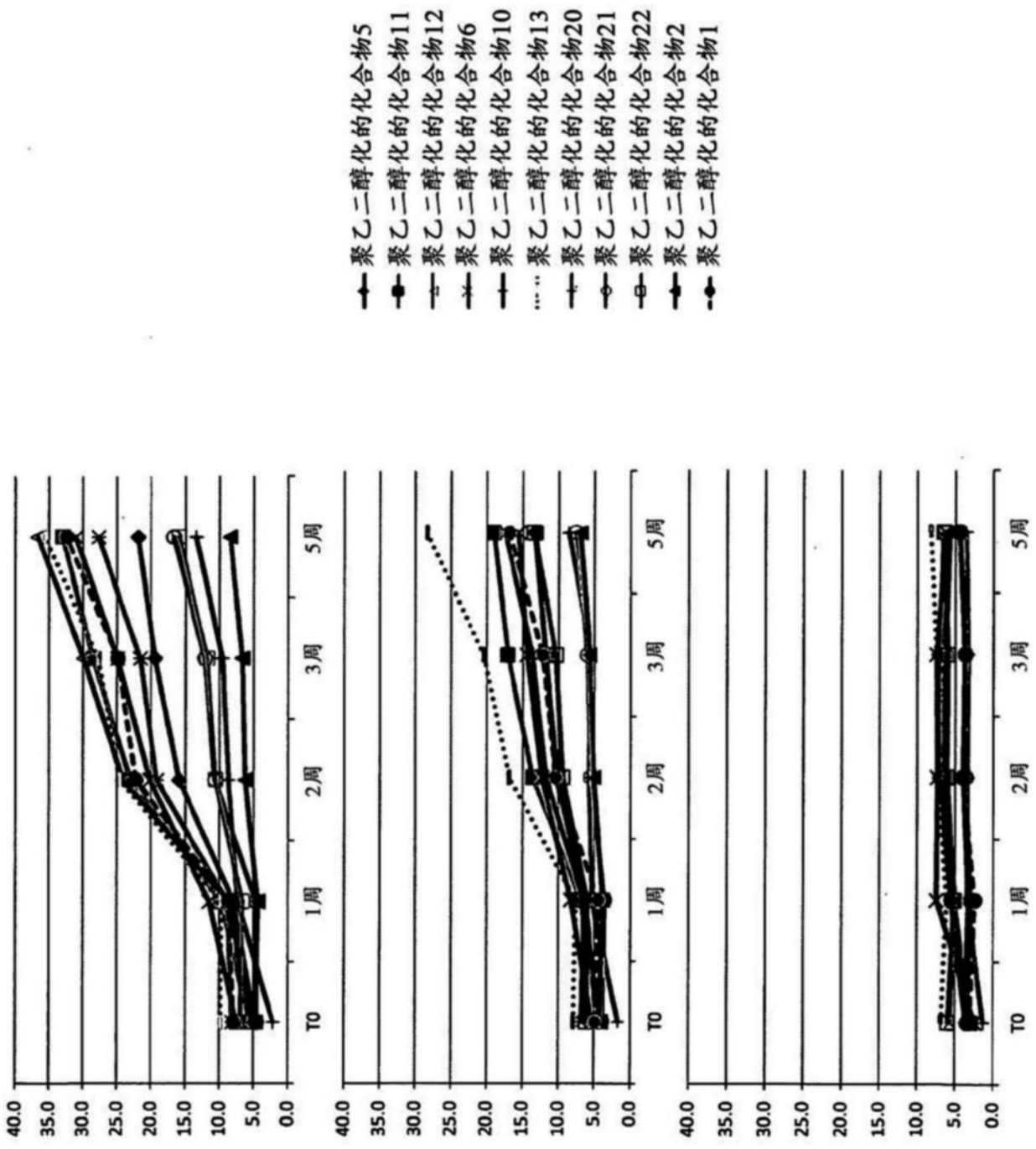

聚乙二醇化的化合物5
聚乙二醇化的化合物11
聚乙二醇化的化合物12
聚乙二醇化的化合物6
聚乙二醇化的化合物10
聚乙二醇化的化合物13
聚乙二醇化的化合物20
聚乙二醇化的化合物21
聚乙二醇化的化合物22
聚乙二醇化的化合物2
聚乙二醇化的化合物1
40.0
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
T0
1周
2周
3周
5周

图6

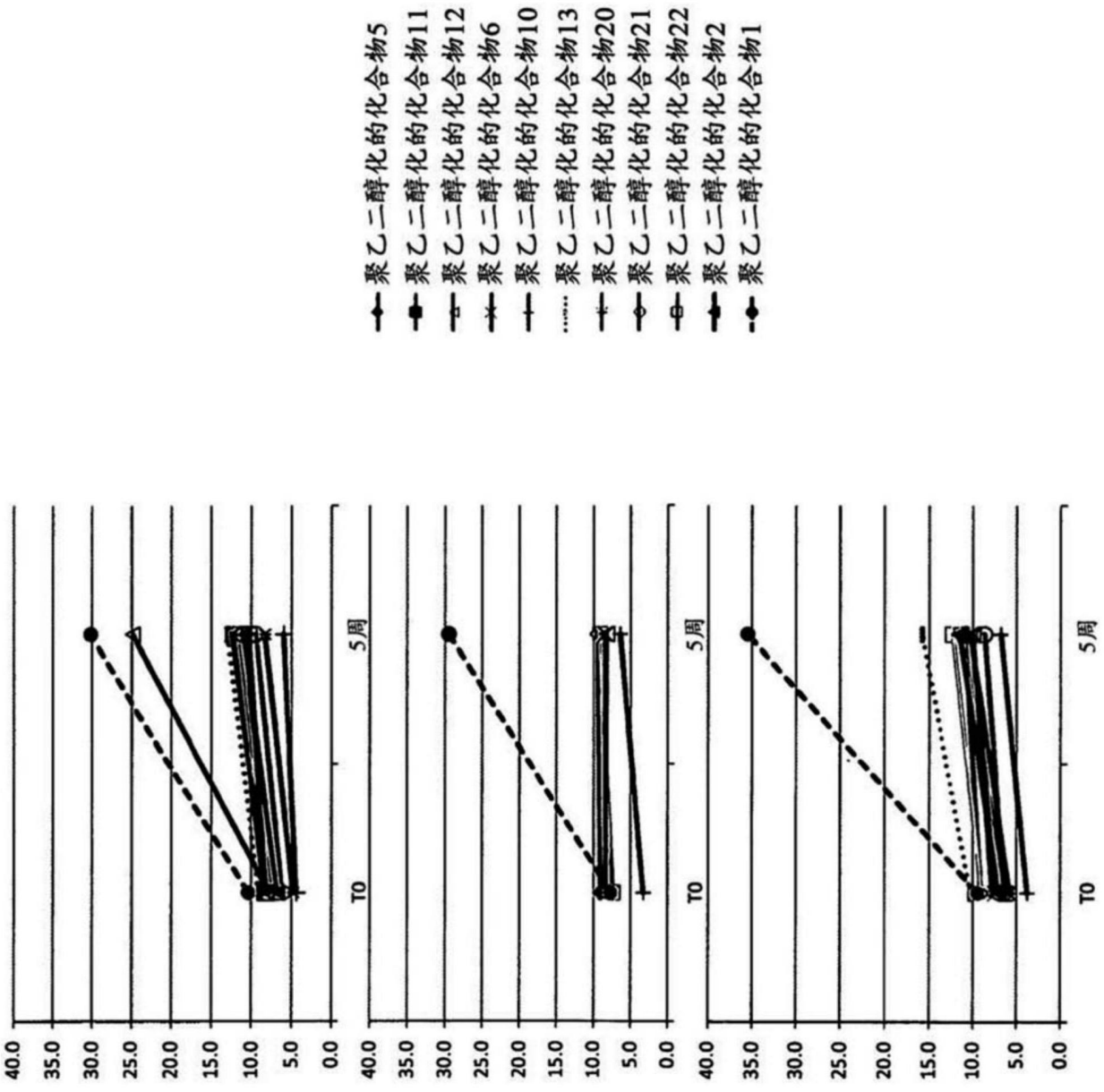

聚乙二醇化的化合物5
聚乙二醇化的化合物11
聚乙二醇化的化合物12
聚乙二醇化的化合物6
聚乙二醇化的化合物10
聚乙二醇化的化合物13
聚乙二醇化的化合物20
聚乙二醇化的化合物21
聚乙二醇化的化合物22
聚乙二醇化的化合物2
聚乙二醇化的化合物1
40.0
35.0
30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
T0
5周

图7

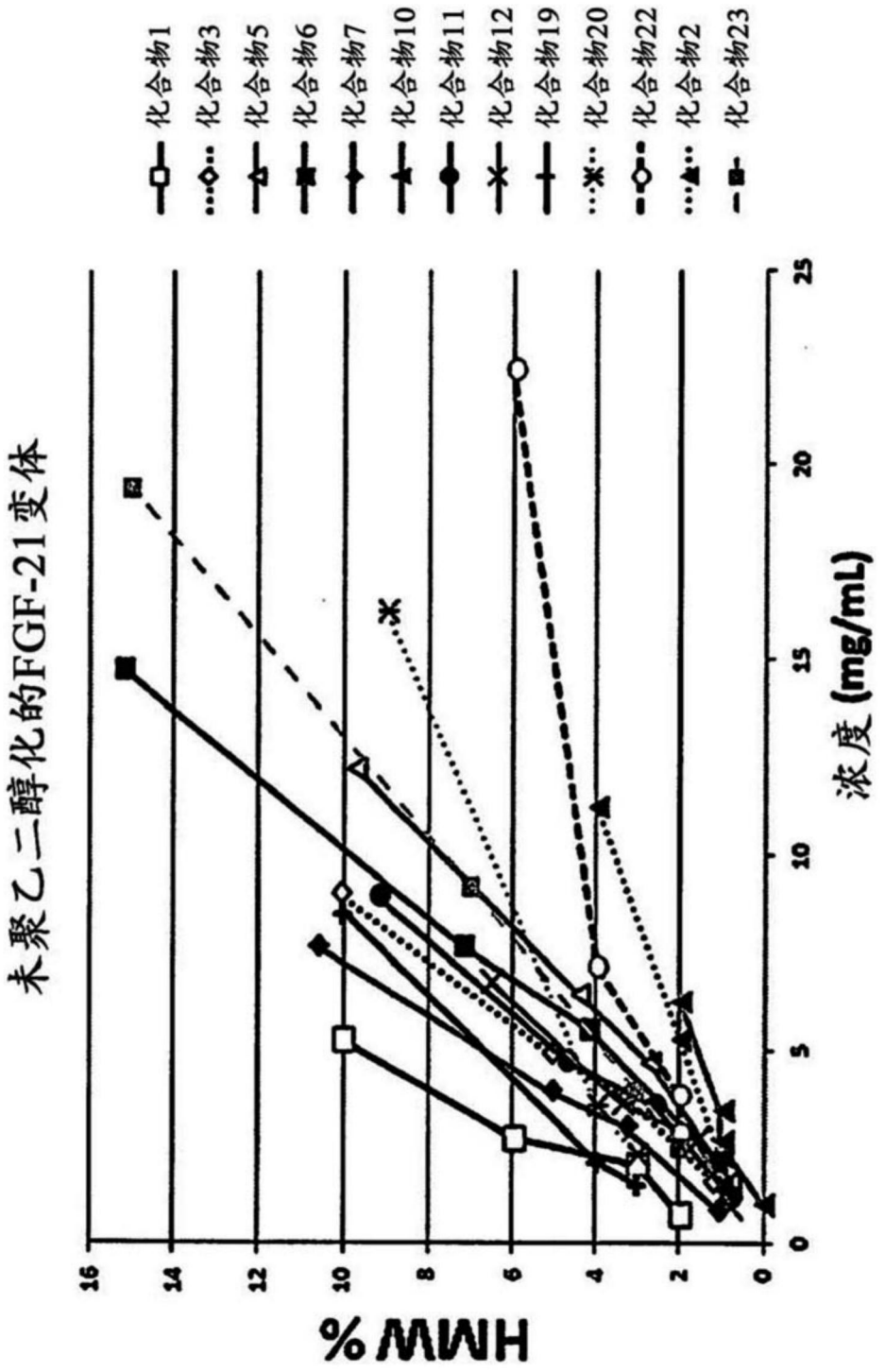

未聚乙二醇化的FGF-21变体
化合物1
化合物3
化合物5
化合物6
化合物7
化合物10
化合物11
化合物12
化合物19
化合物20
化合物22
化合物2
化合物23
%HMW
浓度 (mg/mL)
0
2
4
6
8
10
12
14
16
0
5
10
15
20
25

图8

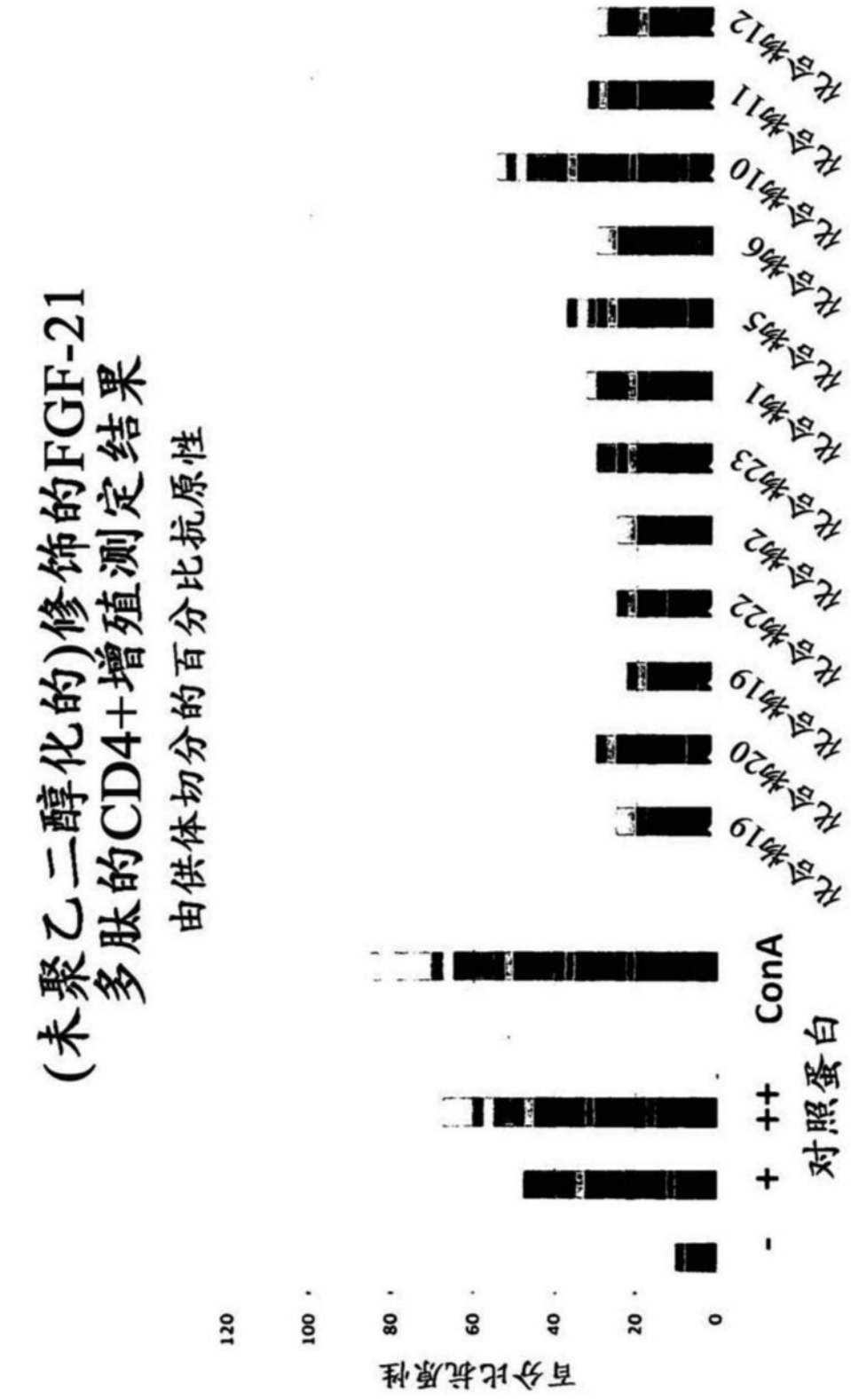

(未聚乙二醇化的)修饰的FGF-21
多肽的CD4+增殖测定结果
由供体切分的百分比抗原性
百分比抗原性
120
100
80
60
40
20
0
-
+
++
ConA
对照蛋白
化合物19
化合物20
化合物19
化合物22
化合物2
化合物23
化合物1
化合物5
化合物6
化合物10
化合物11
化合物12

图9

增强的体内(鼠Ob/Ob)
效力反映对活性蛋白
的增加的暴露

聚乙二醇化的化合物1 SCPK参数ob/ob小鼠			
PK参数	单位	C末端(活性)	总计
Cmax	ng/mL	133	267.9
Tmax	h	7	24
AUCtot	μg/mL*h	2.6	13.8
AUC比	活性/总计	0.18	

聚乙二醇化的化合物2 SCPK参数ob/ob小鼠			
PK参数	单位	C末端(活性)	总计
Cmax	ng/mL	560.5	629
Tmax	h	24	24
AUCtot	μg/mL*h	24.9	31.8
thalf	h	46.1	51.7
AUC比	活性/总计	0.78	

图10

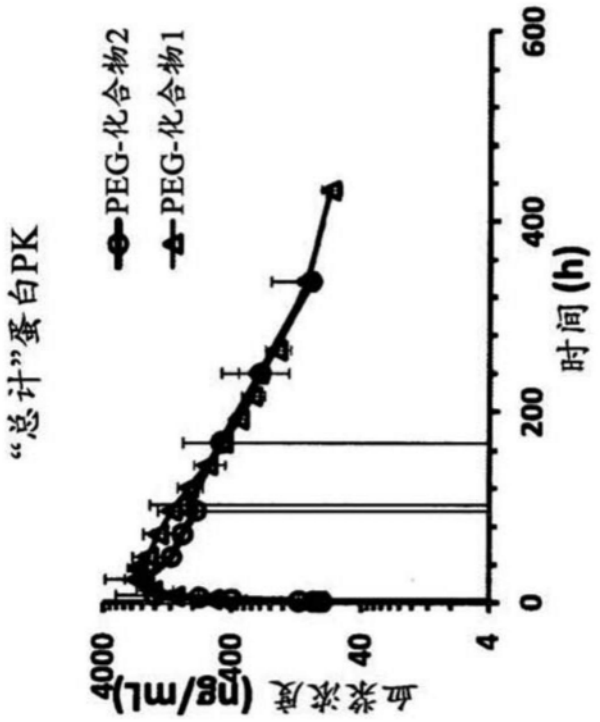

"总计"蛋白PK
PEG-化合物2
PEG-化合物1
血浆浓度 (ng/mL)
4000
400
40
4
0
200
400
600
时间 (h)

图11A

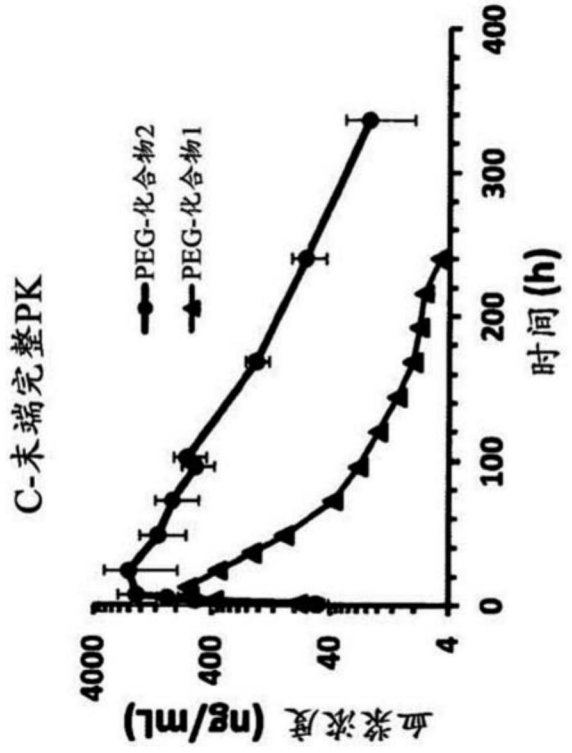

C-末端完整PK
PEG-化合物2
PEG-化合物1
血浆浓度 (ng/mL)
4000
400
40
4
0
100
200
300
400
时间 (h)

图11B

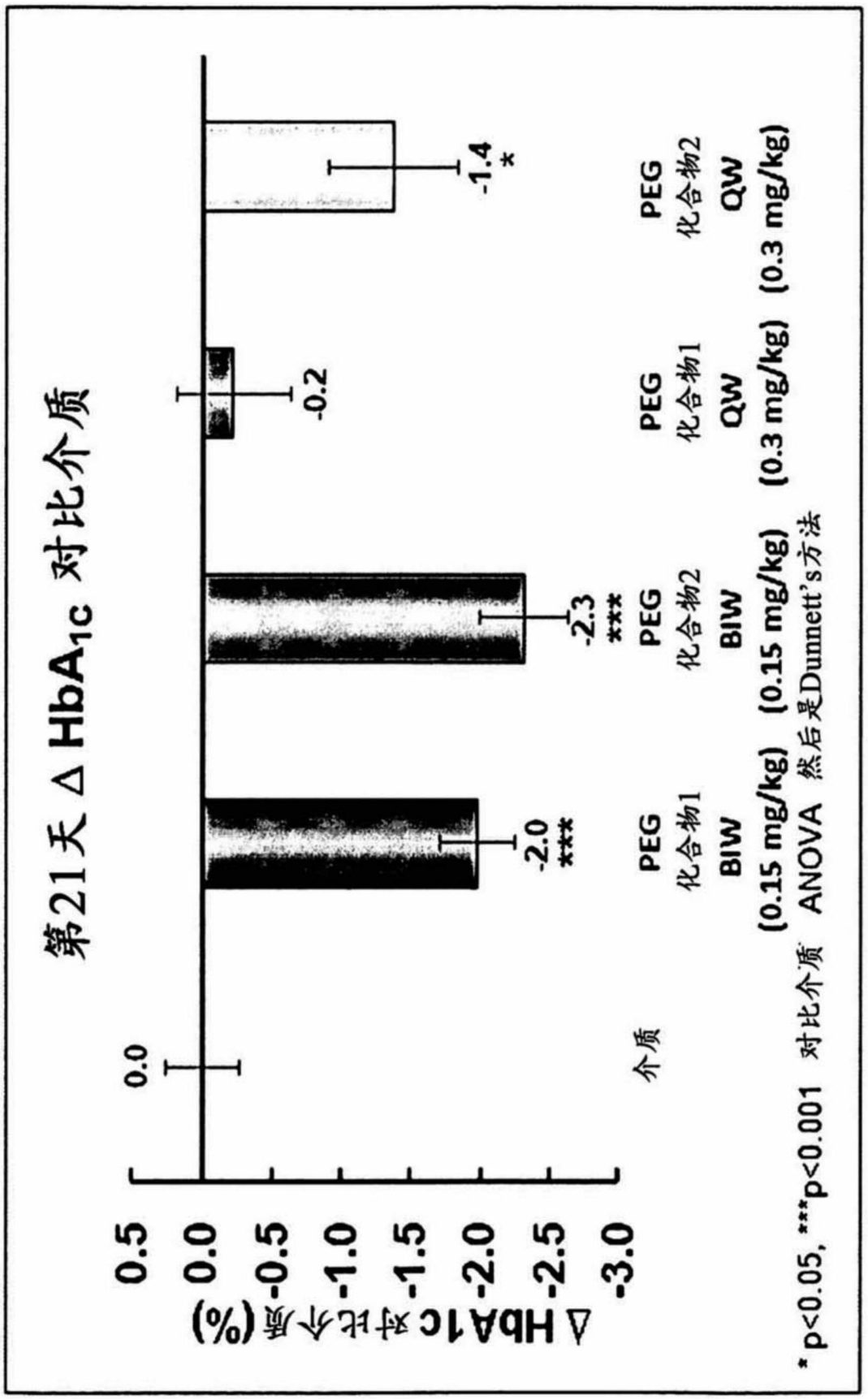

第21天 Δ HbA1c 对比介质
Δ HbA1c对比介质 (%)
0.5
0.0
-0.5
-1.0
-1.5
-2.0
-2.5
-3.0
0.0
-2.0
***
-2.3
***
-0.2
-1.4
*
介质
PEG
化合物1
BIW
(0.15 mg/kg)
PEG
化合物2
BIW
(0.15 mg/kg)
PEG
化合物1
QW
(0.3 mg/kg)
PEG
化合物2
QW
(0.3 mg/kg)
* p<0.05, ***p<0.001 对比介质 ANOVA 然后是Dunnett's方法

图12

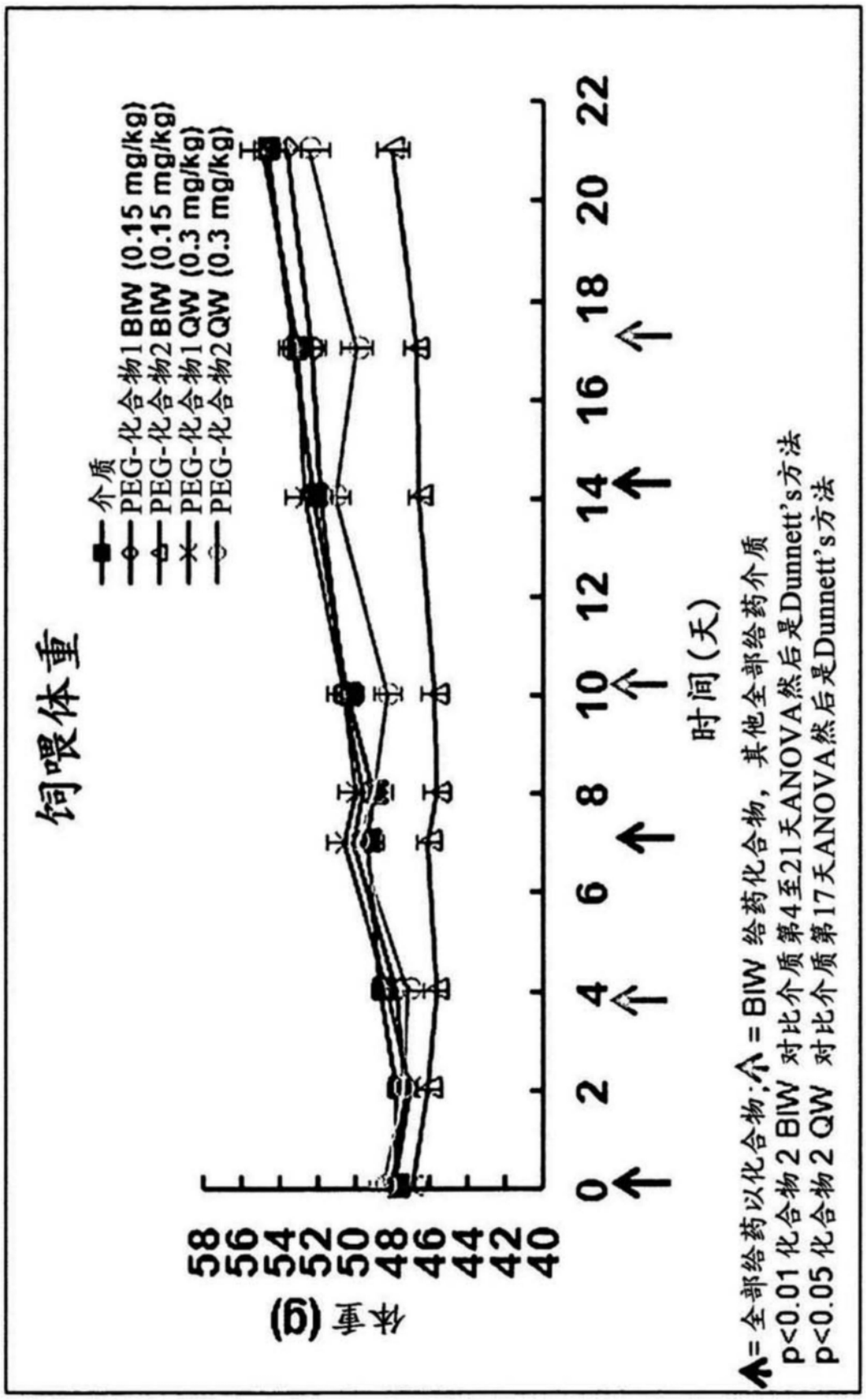

饲喂体重
介质
PEG-化合物1 BIW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物2 BIW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物1 QW (0.3 mg/kg)
PEG-化合物2 QW (0.3 mg/kg)
体重 (g)
58
56
54
52
50
48
46
44
42
40
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
时间 (天)
= 全部给药以化合物; = BIW 给药化合物，其他全部给药介质
p<0.01 化合物 2 BIW 对比介质第4至21天ANOVA然后是Dunnett's方法
p<0.05 化合物 2 QW 对比介质第17天ANOVA然后是Dunnett's方法

图13

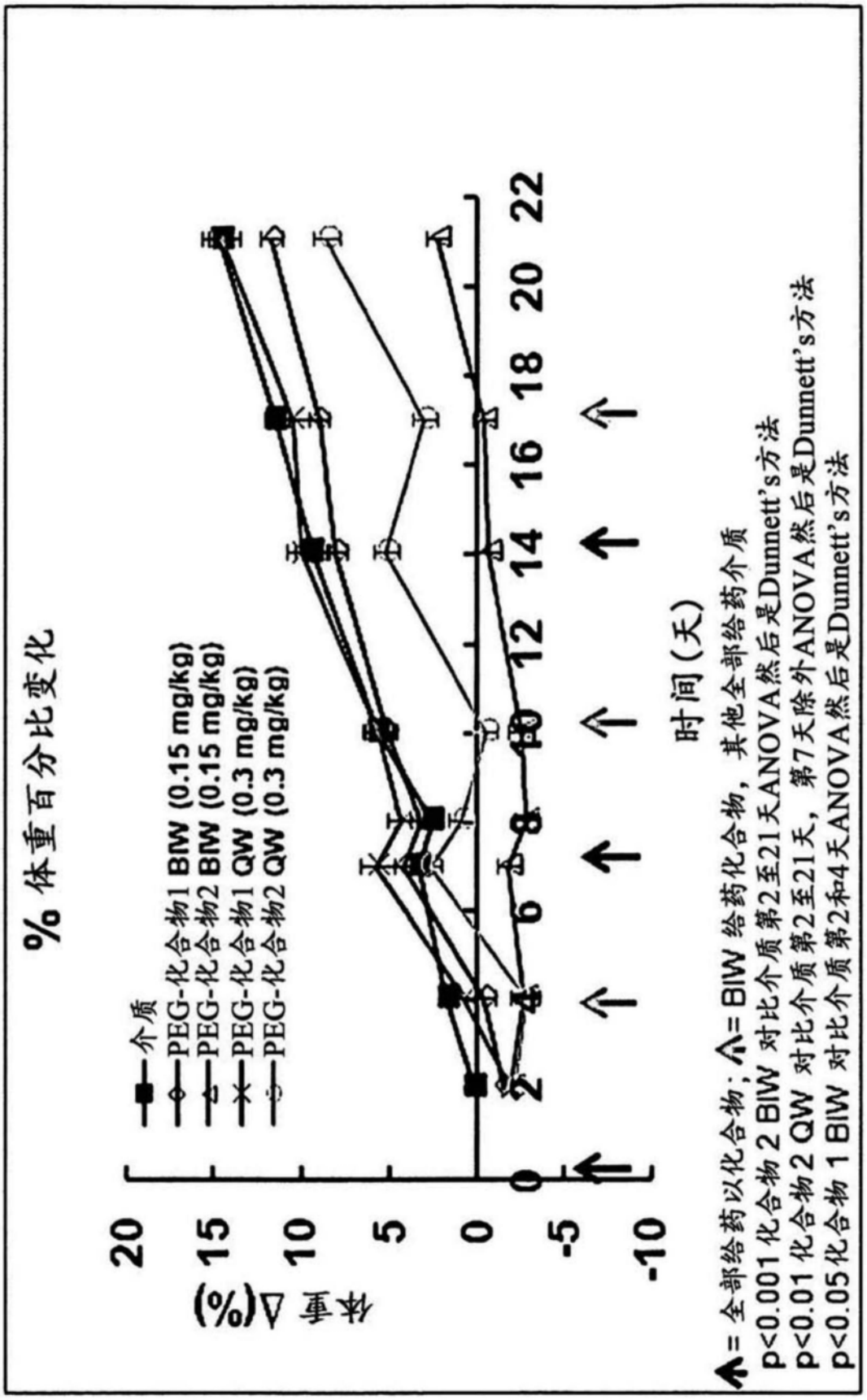

% 体重百分比变化
介质
PEG-化合物1 BW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物2 BW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物1 QW (0.3 mg/kg)
PEG-化合物2 QW (0.3 mg/kg)
体重Δ(%)
20
15
10
5
0
-5
-10
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
时间(天)
= 全部给药以化合物; = BIW 给药化合物，其他全部给药介质
p<0.001 化合物2 BIW 对比介质第2至21天ANOVA然后是Dunnett's方法
p<0.01 化合物2 QW 对比介质第2至21天，第7天除外ANOVA然后是Dunnett's方法
p<0.05 化合物1 BIW 对比介质第2和4天ANOVA然后是Dunnett's方法

图14

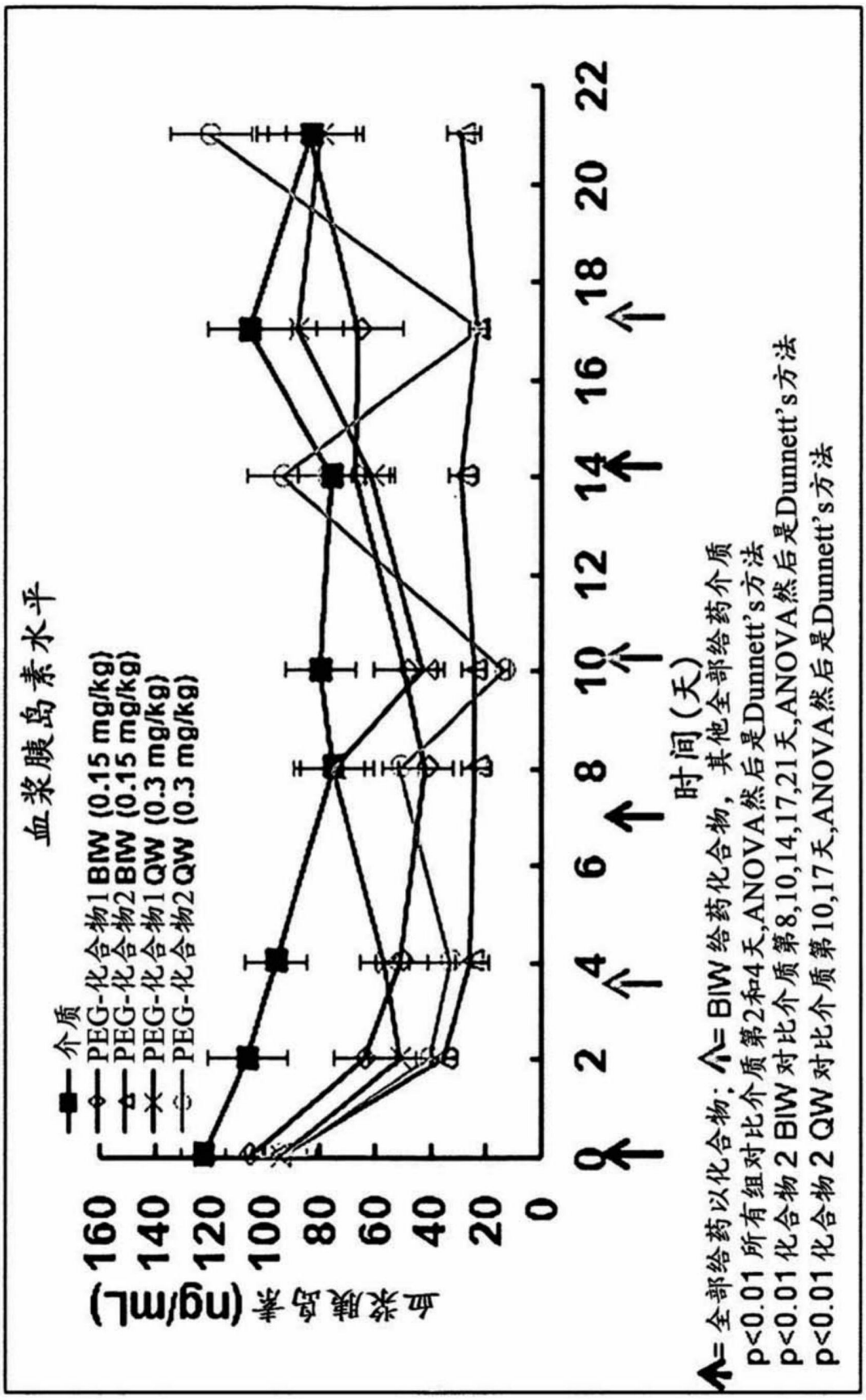

血浆胰岛素水平
介质
PEG-化合物1 BW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物2 BW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物1 QW (0.3 mg/kg)
PEG-化合物2 QW (0.3 mg/kg)
血浆胰岛素 (ng/mL)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
时间 (天)
= 全部给药以化合物; = BIW 给药化合物，其他全部给药介质
p<0.01 所有组对比介质第2和4天,ANOVA然后是Dunnett's方法
p<0.01 化合物 2 BIW 对比介质第8,10,14,17,21天,ANOVA然后是Dunnett's方法
p<0.01 化合物 2 QW 对比介质第10,17天,ANOVA然后是Dunnett's方法

图15

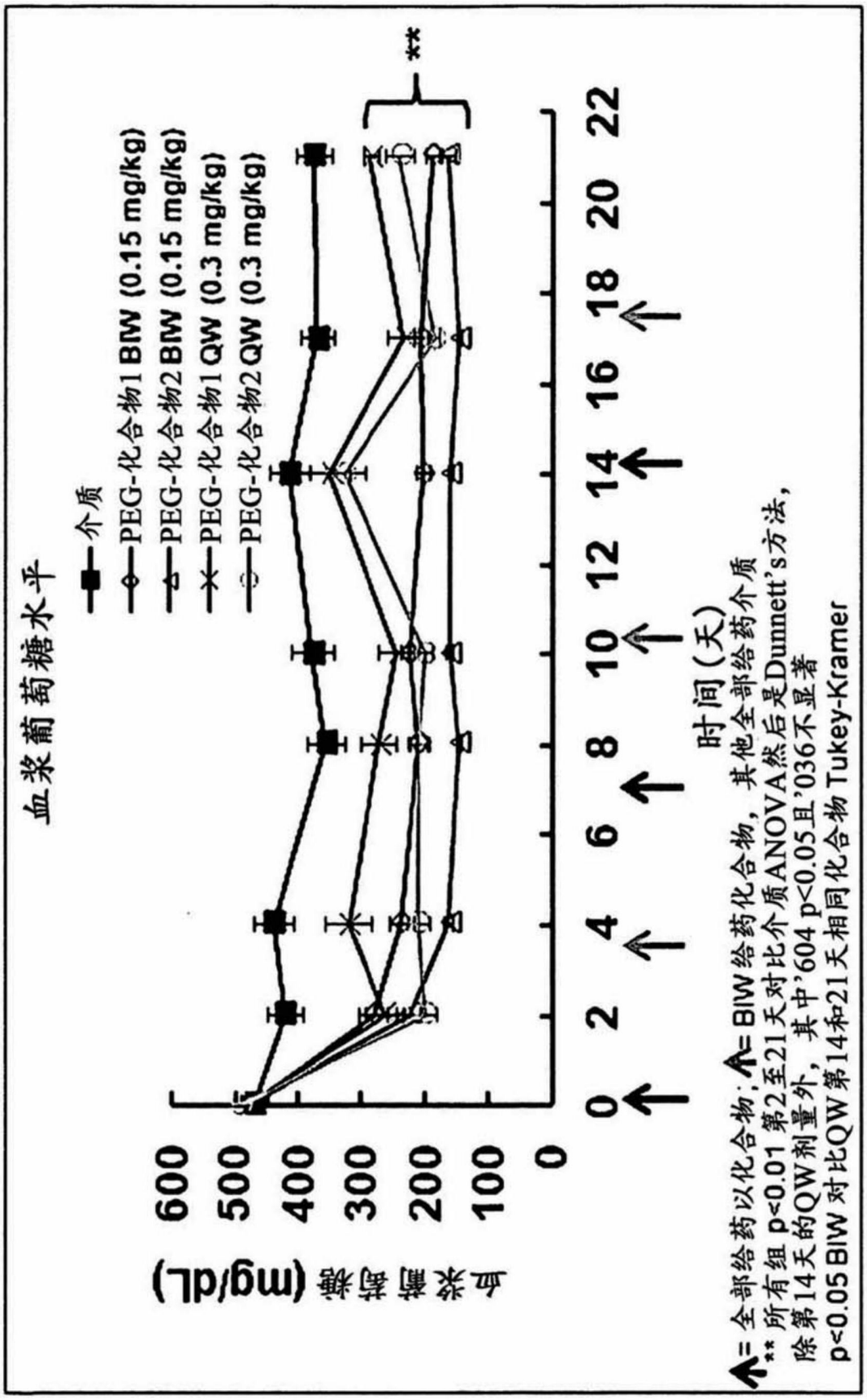

血浆葡萄糖水平
介质
PEG-化合物1 BW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物2 BW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物1 QW (0.3 mg/kg)
PEG-化合物2 QW (0.3 mg/kg)
血浆葡萄糖 (mg/dL)
600
500
400
300
200
100
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
时间 (天)
**
= 全部给药以化合物; = BIW给药化合物，其他全部给药介质
** 所有组 p<0.01 第2至21天对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法，
除第14天的QW剂量外，其中'604 p<0.05且'036不显著
p<0.05 BIW 对比QW第14和21天相同化合物 Tukey-Kramer

图16

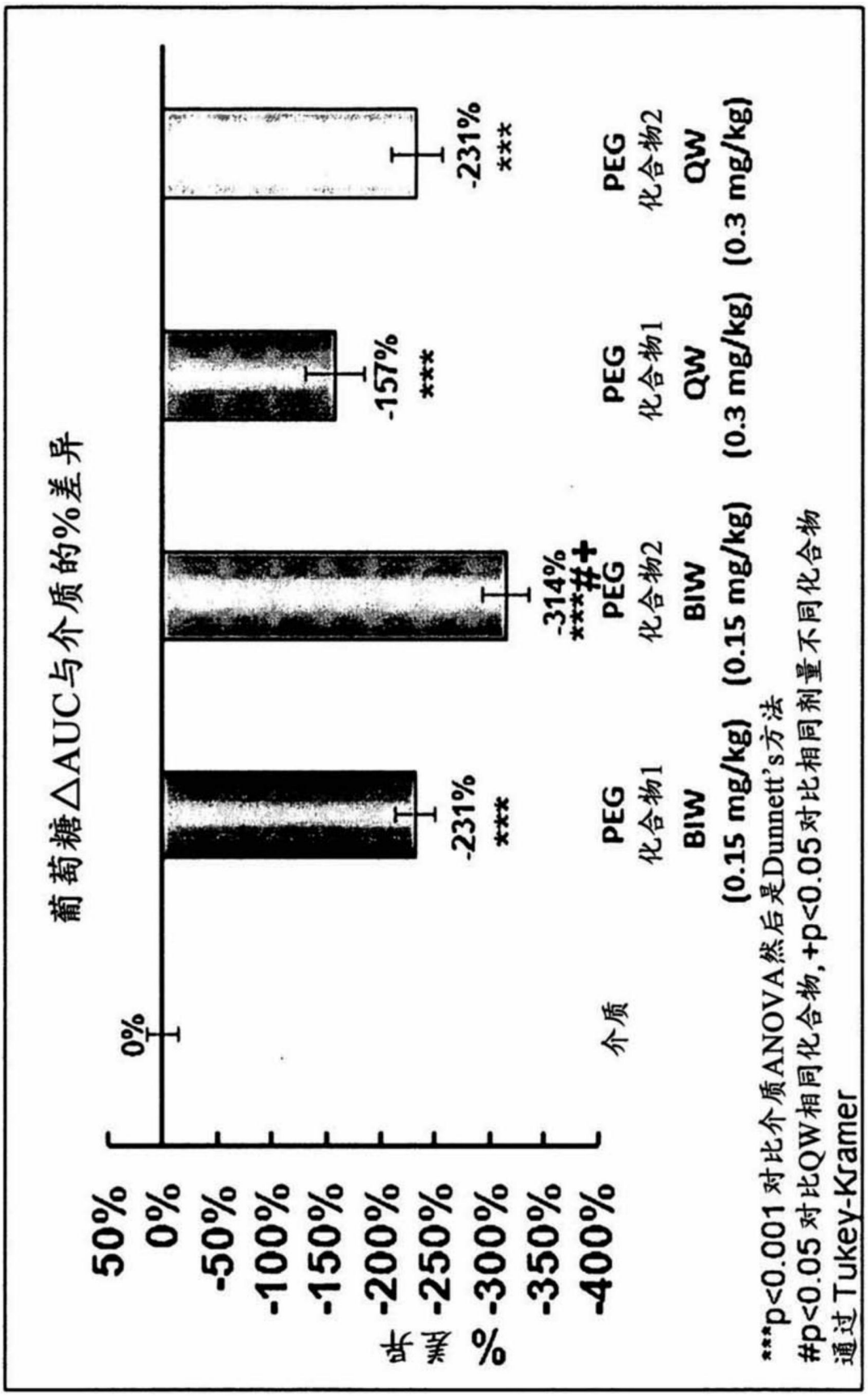

葡萄糖△AUC与介质的%差异
50%
0%
-50%
-100%
-150%
-200%
-250%
-300%
-350%
-400%
0%
-231%
***
-314%
***##+
-157%
***
-231%
***
介质
PEG
化合物1
BIW
(0.15 mg/kg)
PEG
化合物2
BIW
(0.15 mg/kg)
PEG
化合物1
QW
(0.3 mg/kg)
PEG
化合物2
QW
(0.3 mg/kg)
***p<0.001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法
#p<0.05 对比QW相同化合物，+p<0.05对比相同剂量不同化合物
通过Tukey-Kramer

图17

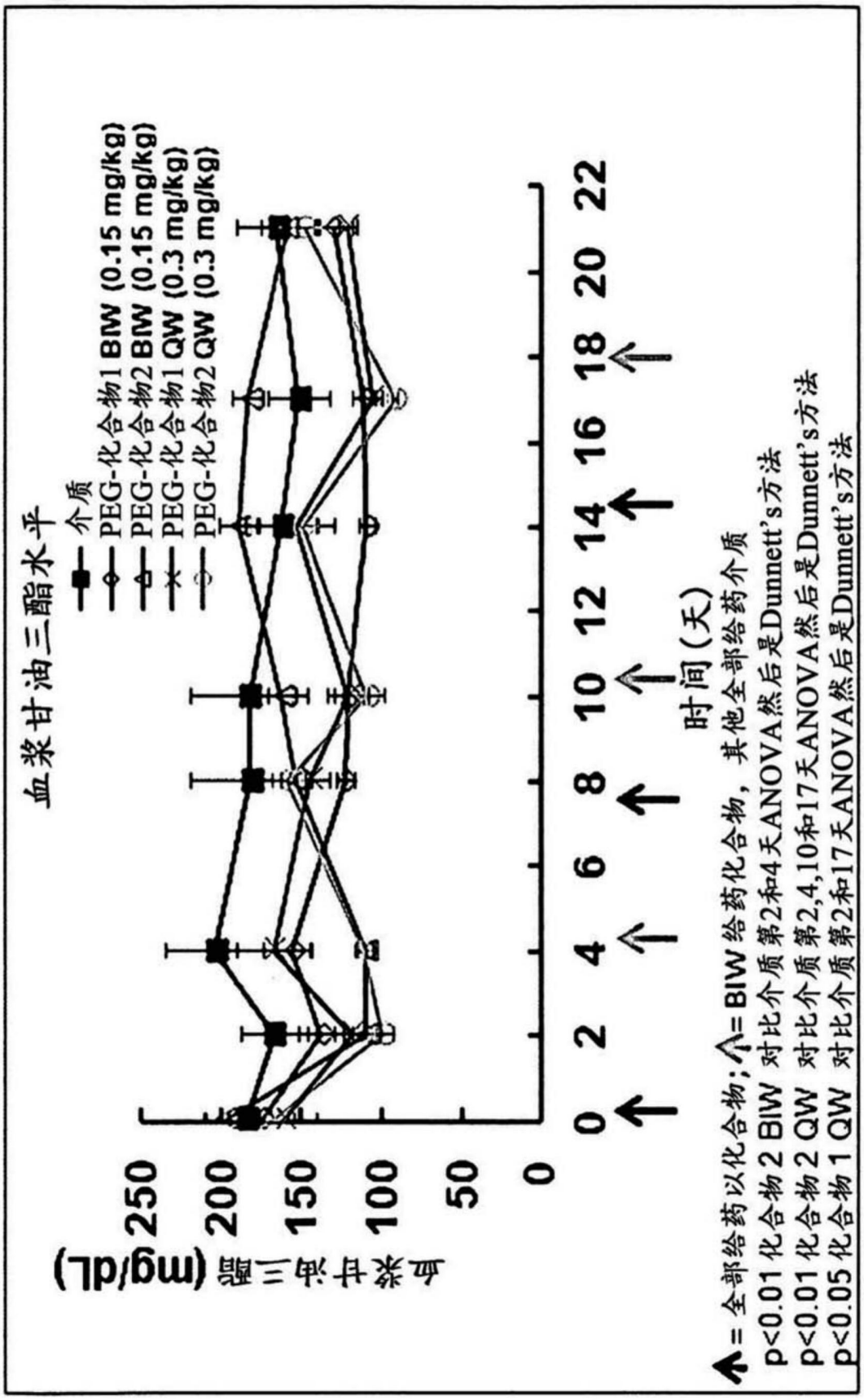

血浆甘油三酯水平
介质
PEG-化合物1 BW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物2 BW (0.15 mg/kg)
PEG-化合物1 QW (0.3 mg/kg)
PEG-化合物2 QW (0.3 mg/kg)
血浆甘油三酯 (mg/dL)
250
200
150
100
50
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
时间 (天)
= 全部给药以化合物; = BIW 给药化合物，其他全部给药介质
p<0.01 化合物 2 BIW 对比介质第2和4天ANOVA然后是Dunnett's方法
p<0.01 化合物 2 QW 对比介质第2,4,10和17天ANOVA然后是Dunnett's方法
p<0.05 化合物 1 QW 对比介质第2和17天ANOVA然后是Dunnett's方法

图18

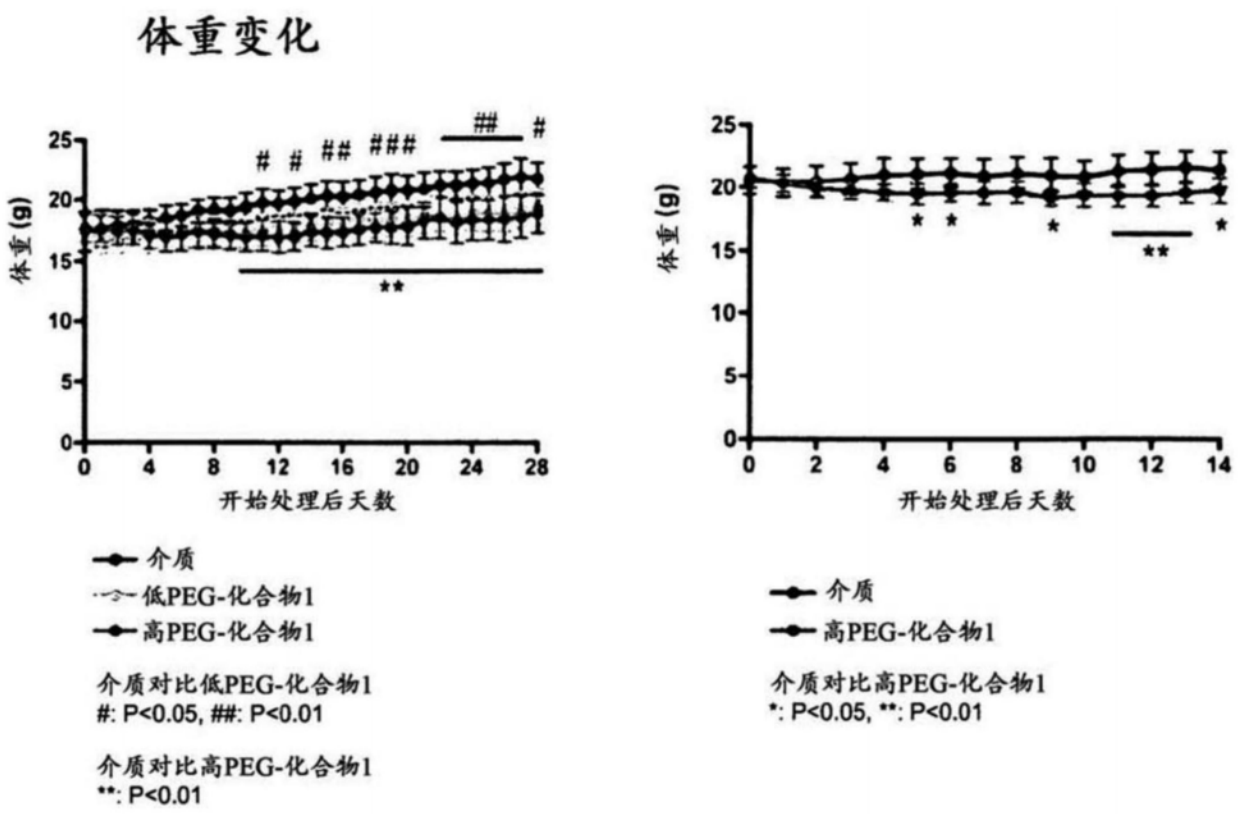

体重变化
体重(g)
开始处理后天数
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质对比低PEG-化合物1
#: P<0.05, ##: P<0.01
介质对比高PEG-化合物1
**: P<0.01
介质
高PEG-化合物1
介质对比高PEG-化合物1
*: P<0.05, **: P<0.01

图19

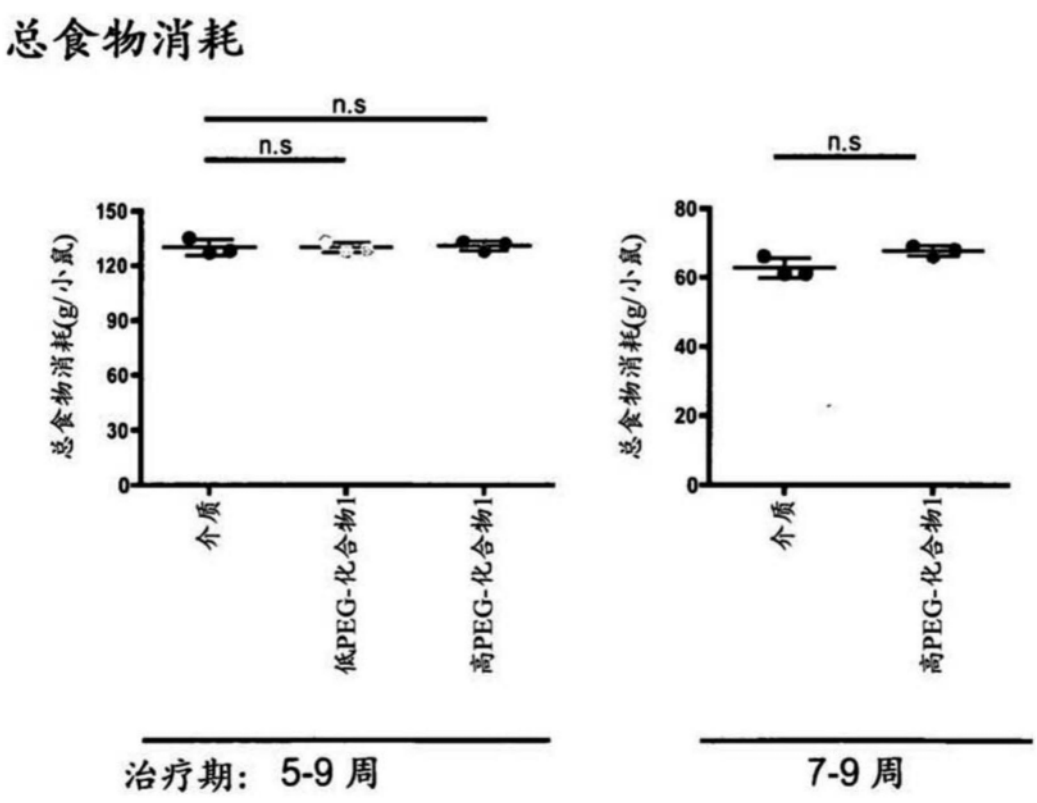

总食物消耗
n.s
n.s
n.s
总食物消耗(g/小鼠)
150
120
90
60
30
0
80
60
40
20
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图20

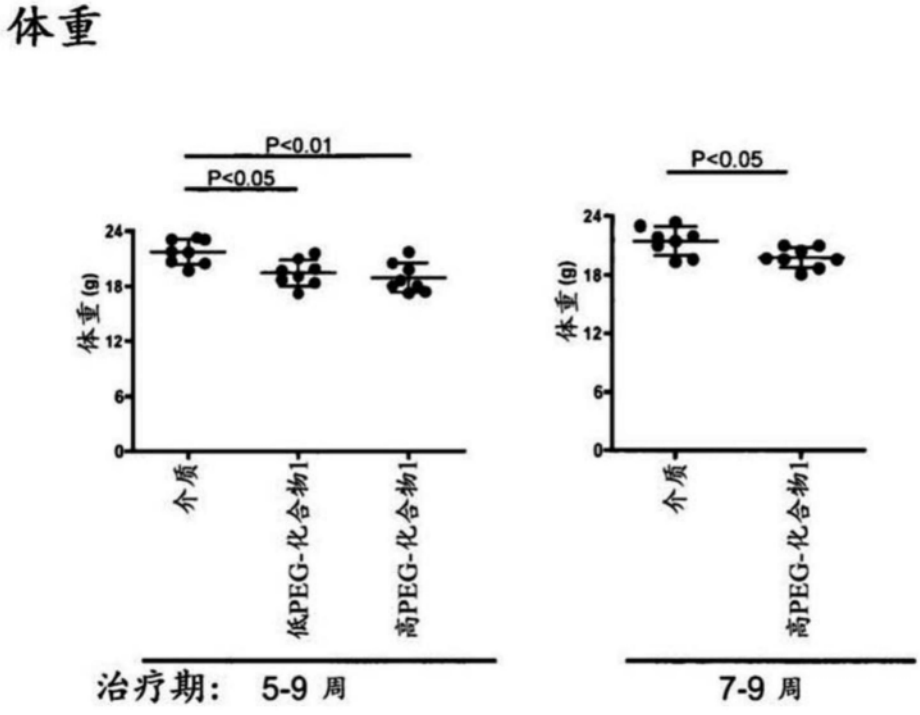

体重
P<0.01
P<0.05
P<0.05
体重(g)
24
18
12
6
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图21

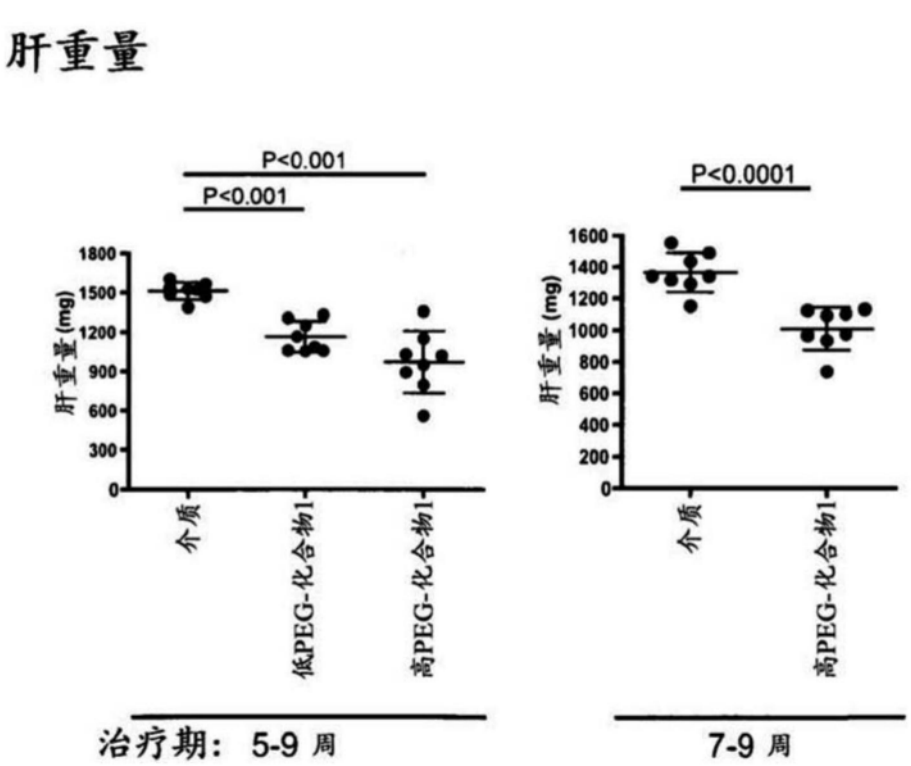

肝重量
P<0.001
P<0.001
肝重量(mg)
1800
1500
1200
900
600
300
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
P<0.0001
肝重量(mg)
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
介质
高PEG-化合物1
7-9 周

图22

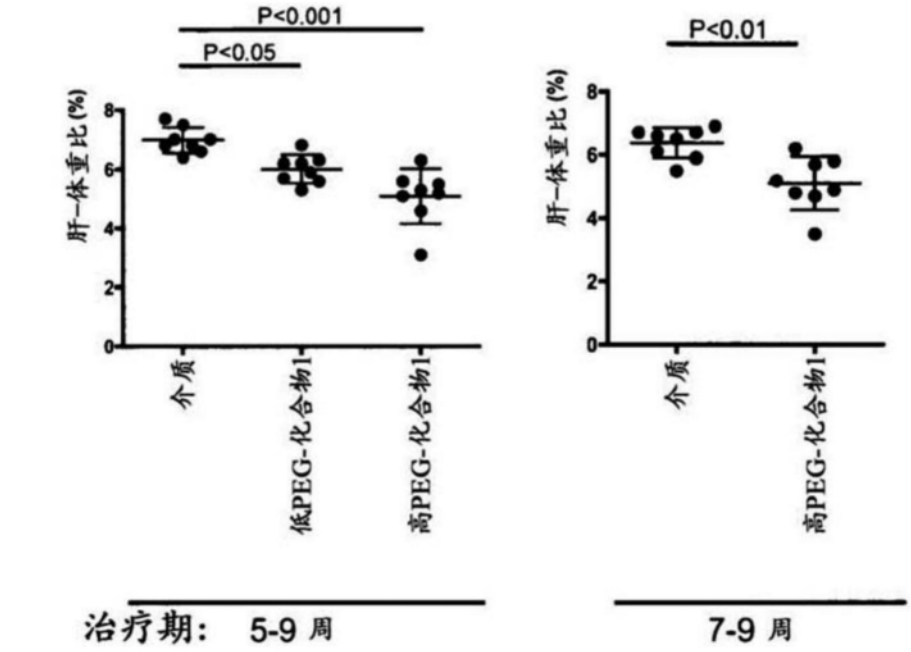

肝-体重比
P<0.001
P<0.05
肝-体重比(%)
8
6
4
2
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
P<0.01
肝-体重比(%)
8
6
4
2
0
介质
高PEG-化合物1
7-9 周

图23

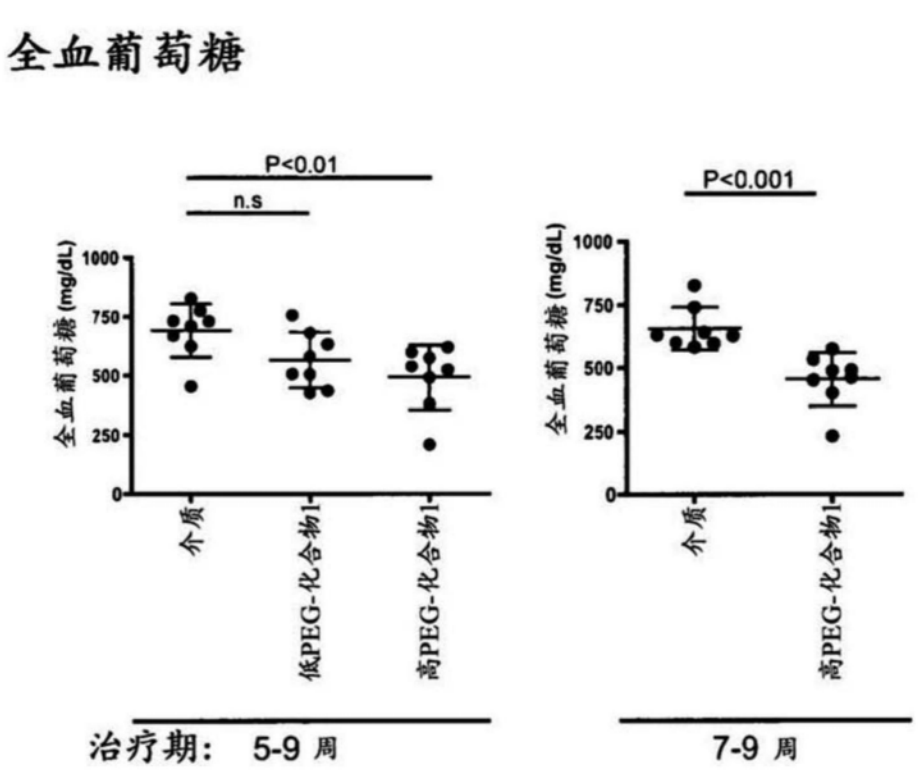

全血葡萄糖
P<0.01
n.s
P<0.001
全血葡萄糖 (mg/dL)
1000
750
500
250
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图24

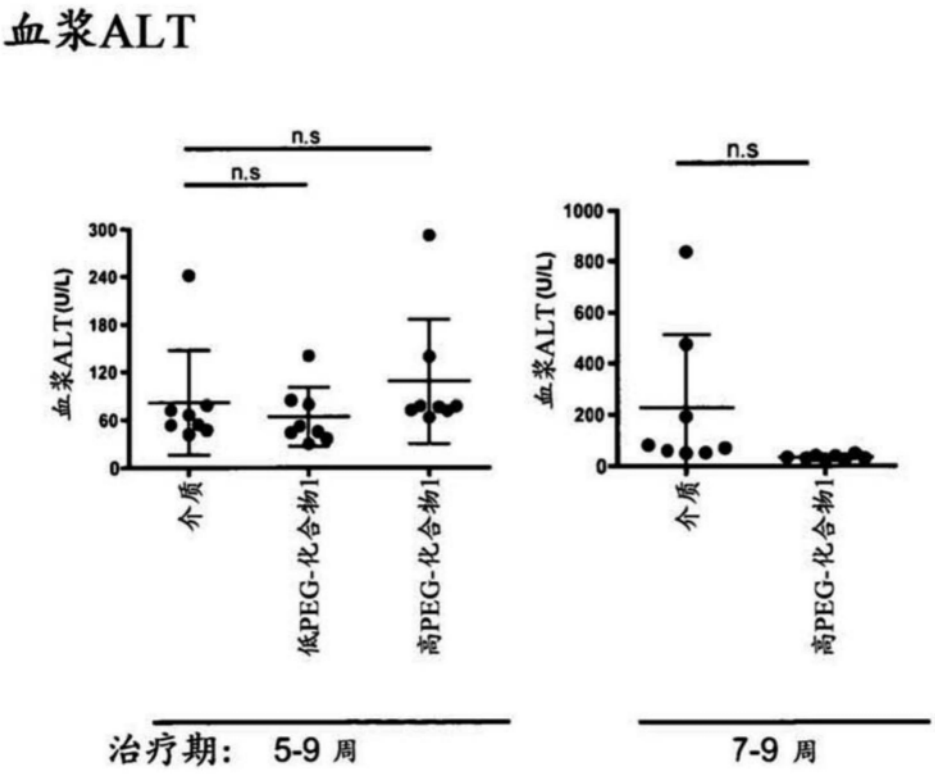

血浆ALT
n.s
n.s
血浆ALT (U/L)
300
240
180
120
60
0
1000
800
600
400
200
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图25

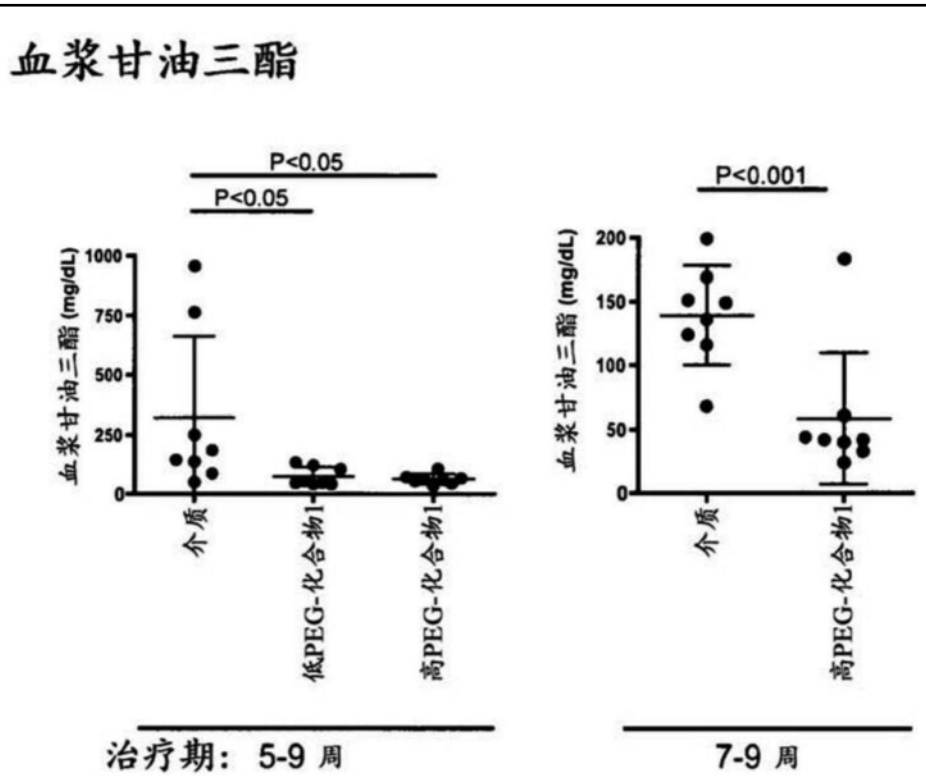

血浆甘油三酯
P<0.05
P<0.05
血浆甘油三酯 (mg/dL)
1000
750
500
250
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
P<0.001
血浆甘油三酯 (mg/dL)
200
150
100
50
0
介质
高PEG-化合物1
7-9 周

图26

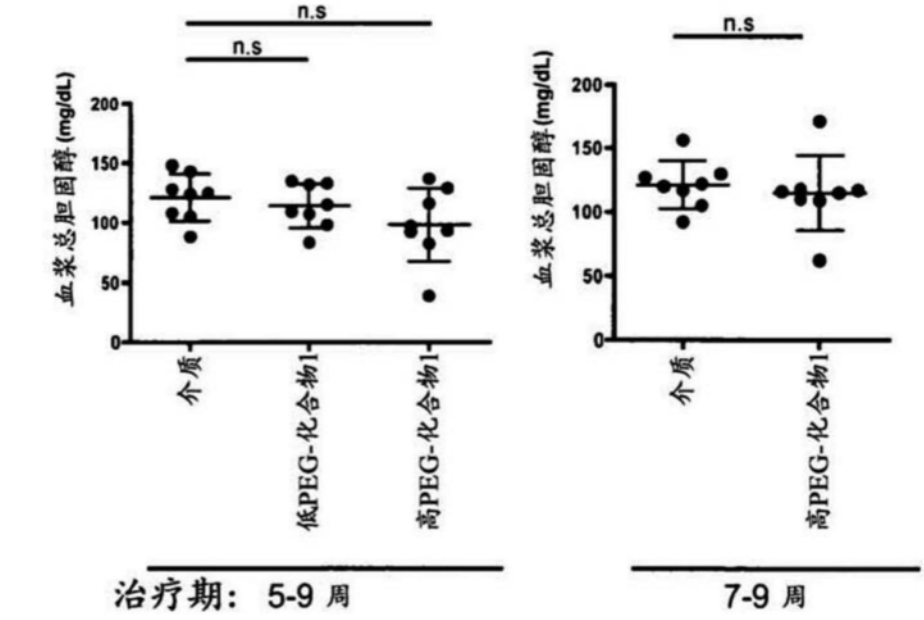

血浆总胆固醇
n.s
n.s
血浆总胆固醇 (mg/dL)
200
150
100
50
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
n.s
血浆总胆固醇 (mg/dL)
200
150
100
50
0
介质
高PEG-化合物1
7-9 周

图27

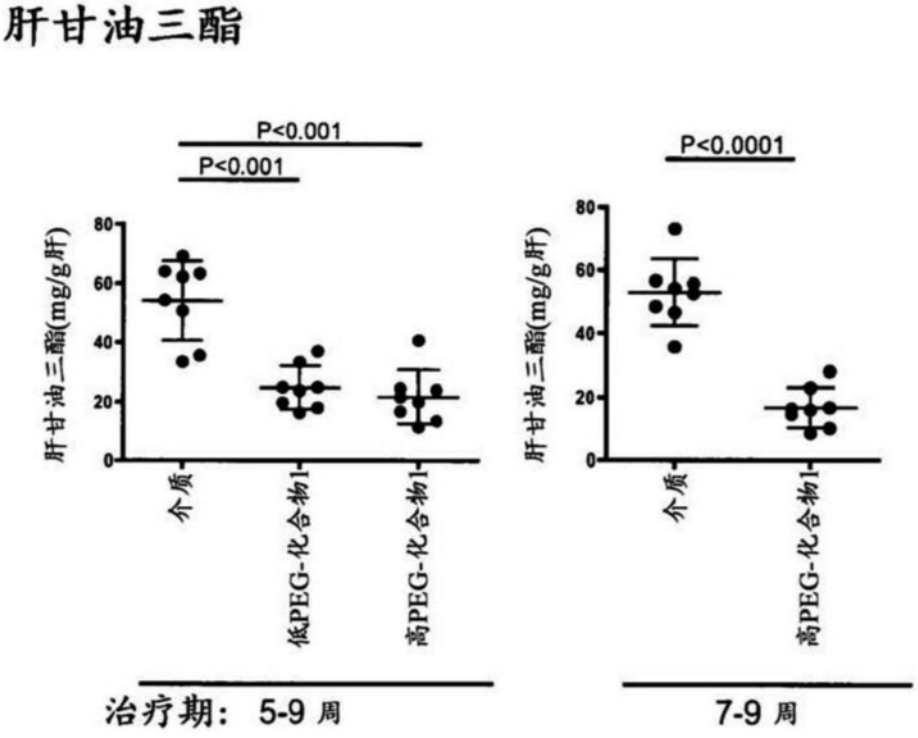

肝甘油三酯
P<0.001
P<0.001
肝甘油三酯(mg/g肝)
80
60
40
20
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
P<0.0001
肝甘油三酯(mg/g肝)
80
60
40
20
0
介质
高PEG-化合物1
7-9 周

图28

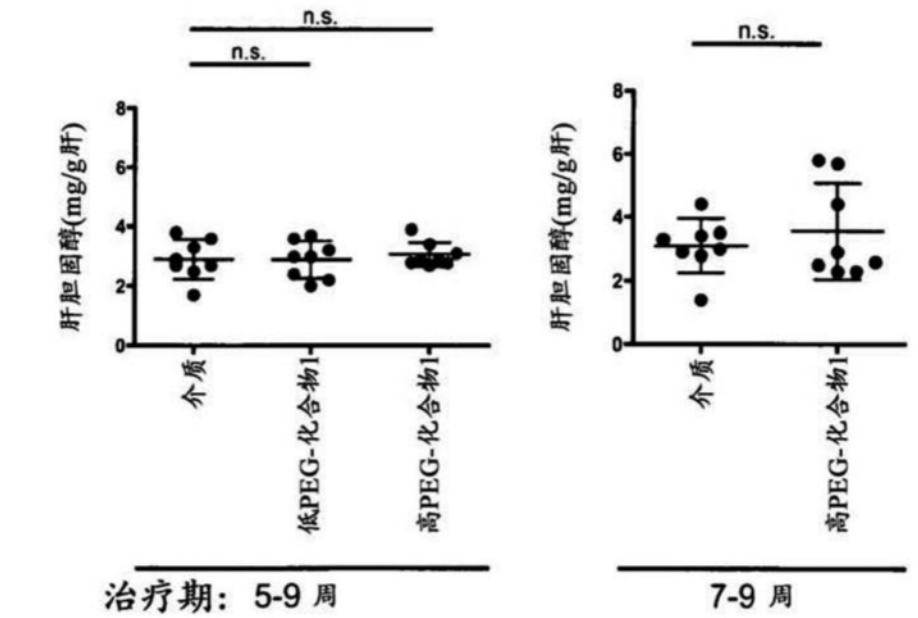

肝胆固醇
n.s.
n.s.
肝胆固醇(mg/g肝)
8
6
4
2
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
n.s.
肝胆固醇(mg/g肝)
8
6
4
2
0
介质
高PEG-化合物1
7-9 周

图29

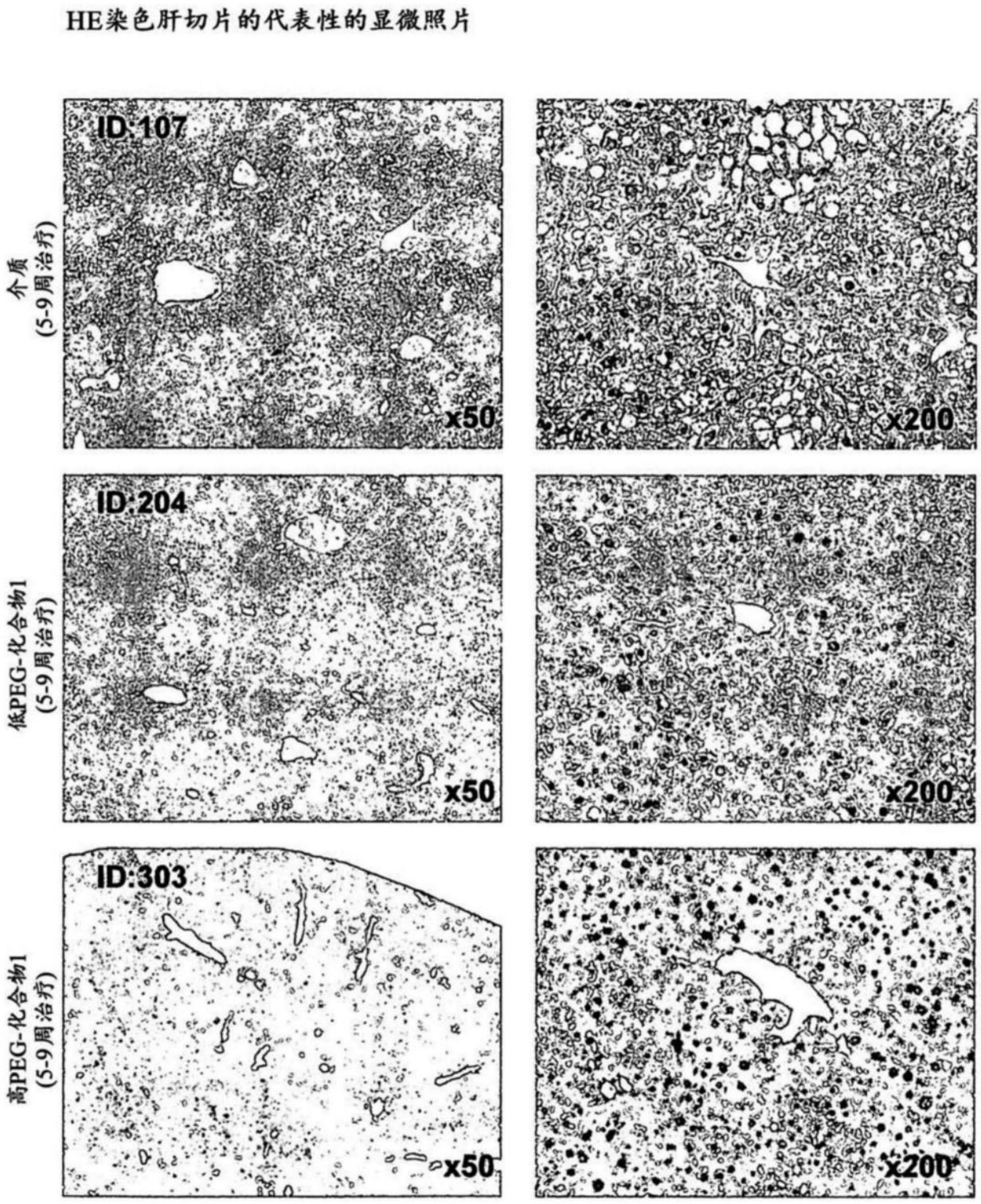

HE染色肝切片的代表性的显微照片
介质
(5-9周治疗)
ID:107
x50
x200
低PEG-化合物1
(5-9周治疗)
ID:204
x50
x200
高PEG-化合物1
(5-9周治疗)
ID:303
x50
x200

图30A

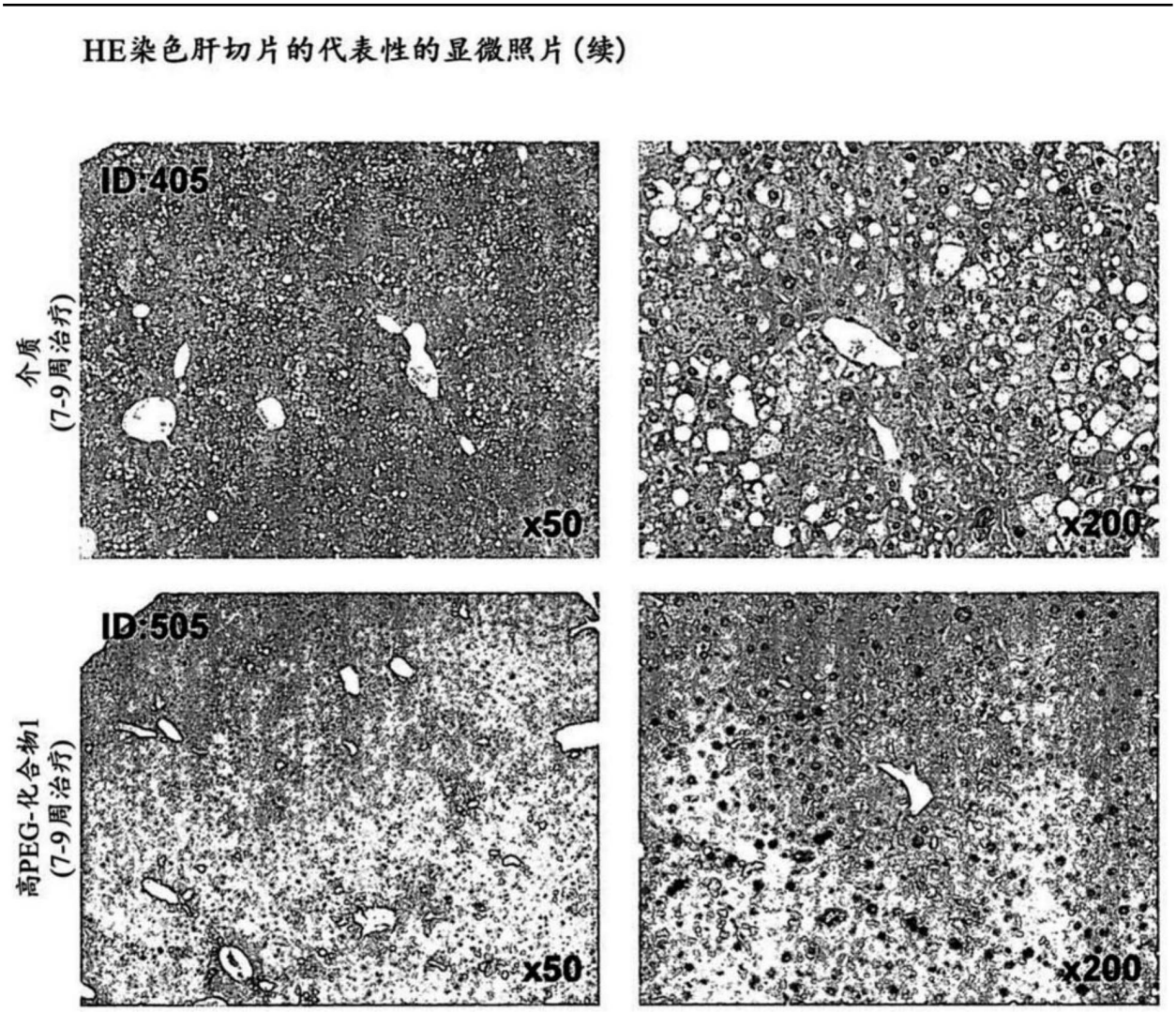

HE染色肝切片的代表性的显微照片(续)
介质
(7-9周治疗)
ID:405
x50
x200
高PEG-化合物1
(7-9周治疗)
ID:505
x50
x200

图30B

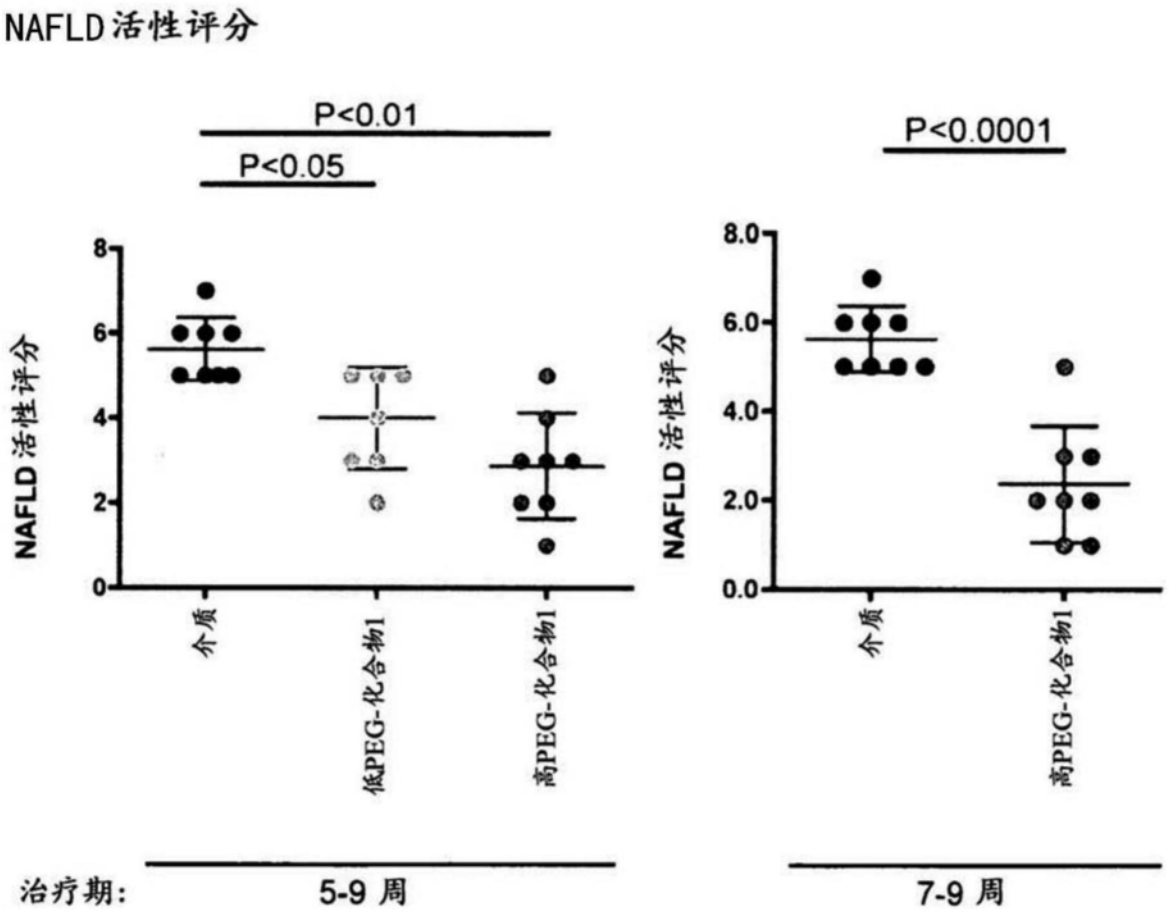

NAFLD活性评分
P<0.01
P<0.05
NAFLD活性评分
8
6
4
2
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期:
5-9 周
P<0.0001
NAFLD活性评分
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
介质
高PEG-化合物1
7-9 周

图31

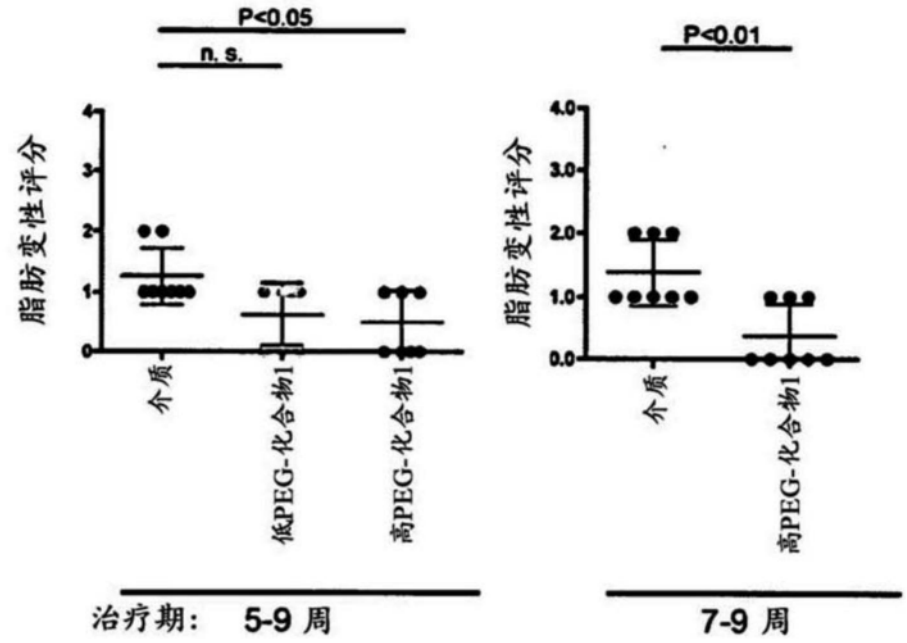

脂肪变性评分
P<0.05
n. s.
P<0.01
脂肪变性评分
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图32A

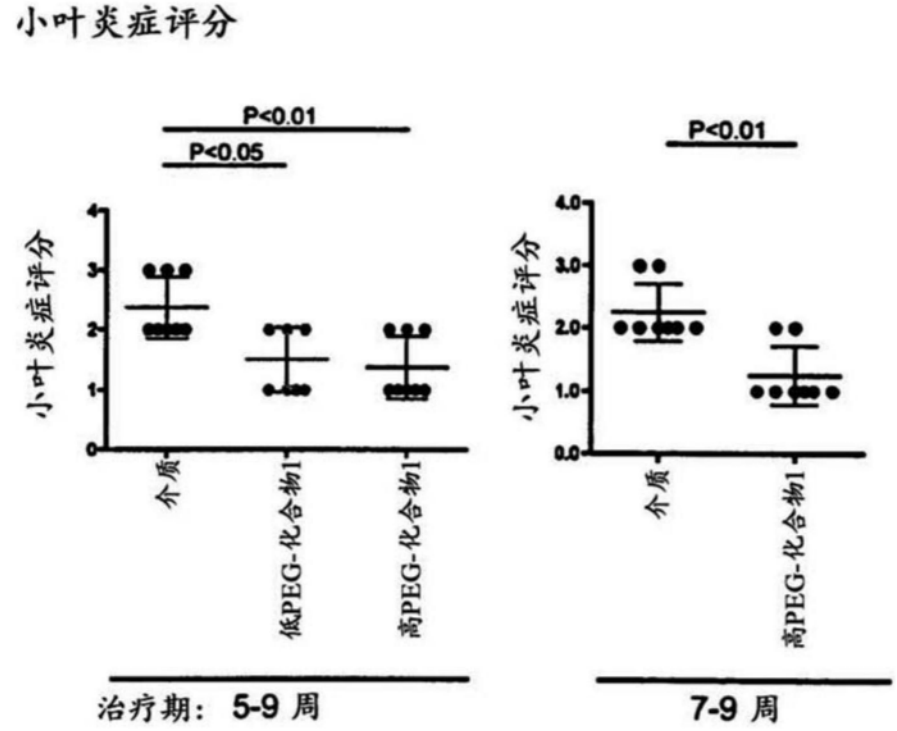

小叶炎症评分
P<0.01
P<0.05
P<0.01
小叶炎症评分
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图32B

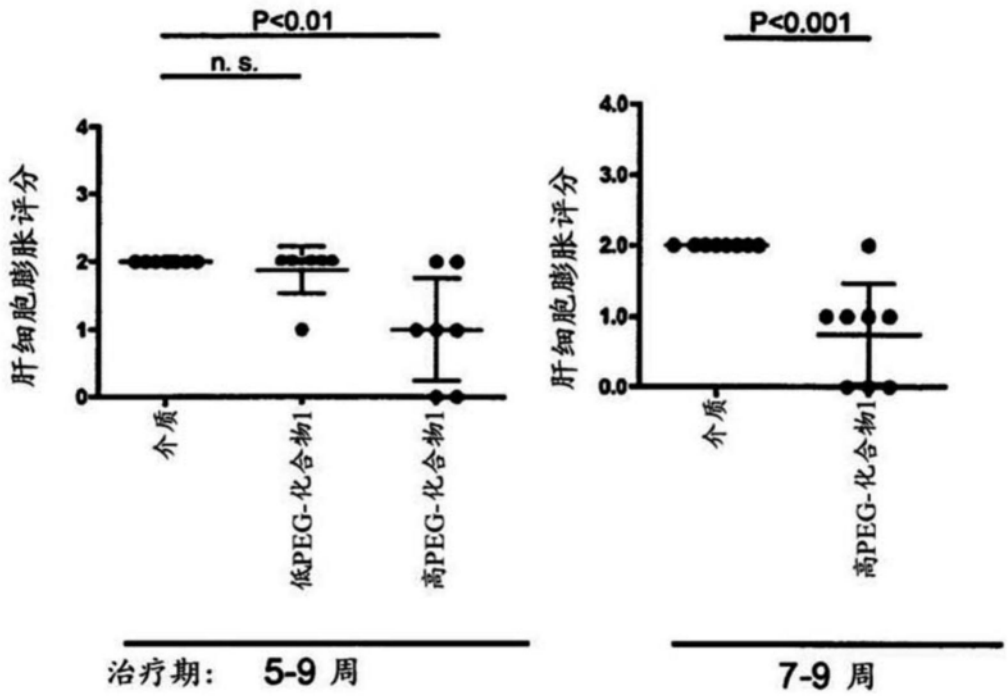

肝细胞膨胀评分
P<0.01
n. s.
P<0.001
肝细胞膨胀评分
4
3
2
1
0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图32C

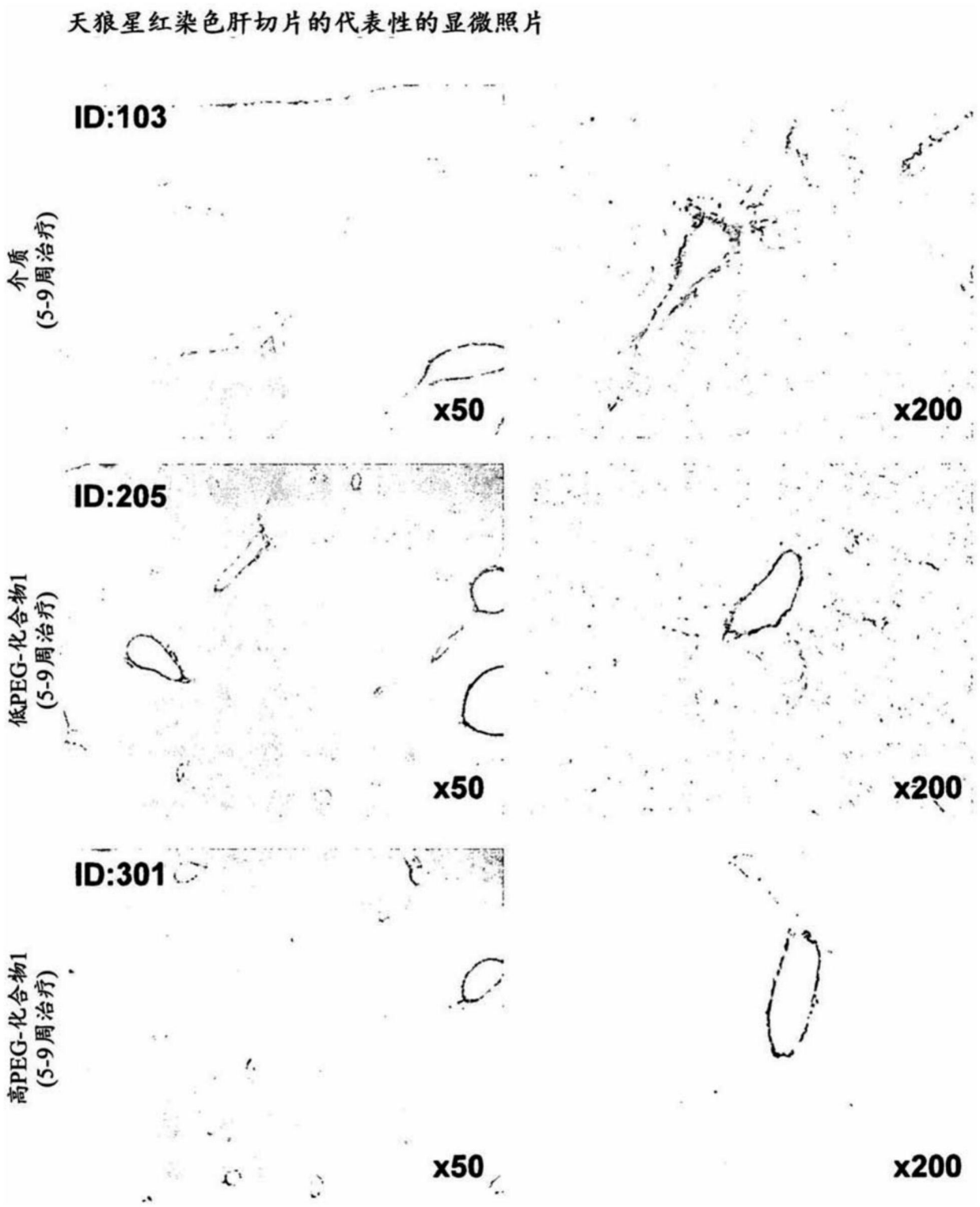

天狼星红染色肝切片的代表性的显微照片
ID:103
介质
(5-9周治疗)
x50
x200
ID:205
低PEG-化合物1
(5-9周治疗)
x50
x200
ID:301
高PEG-化合物1
(5-9周治疗)
x50
x200

图33A

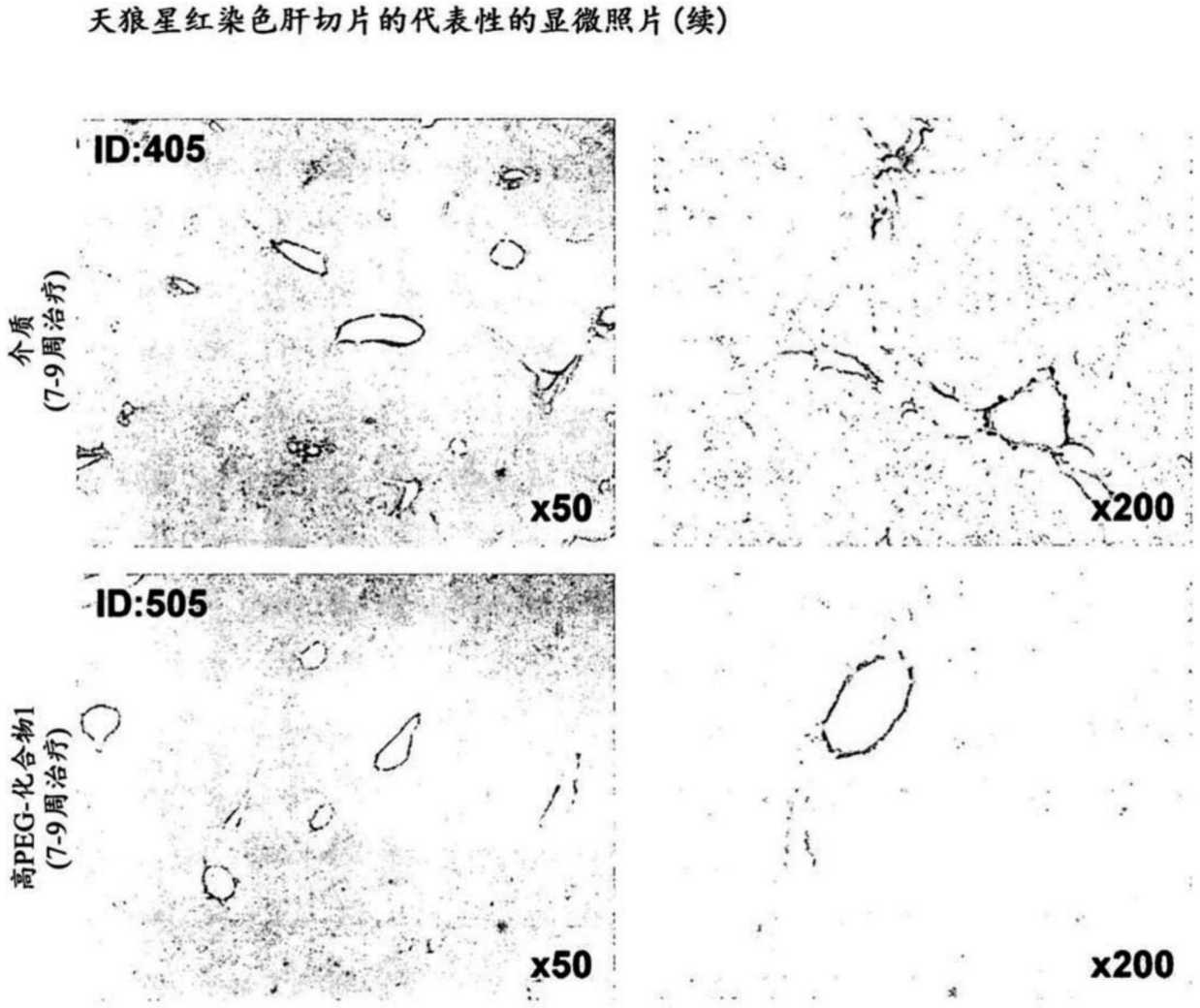

天狼星红染色肝切片的代表性的显微照片(续)
ID:405
介质
(7-9周治疗)
x50
x200
ID:505
高PEG-化合物1
(7-9周治疗)
x50
x200

图33B

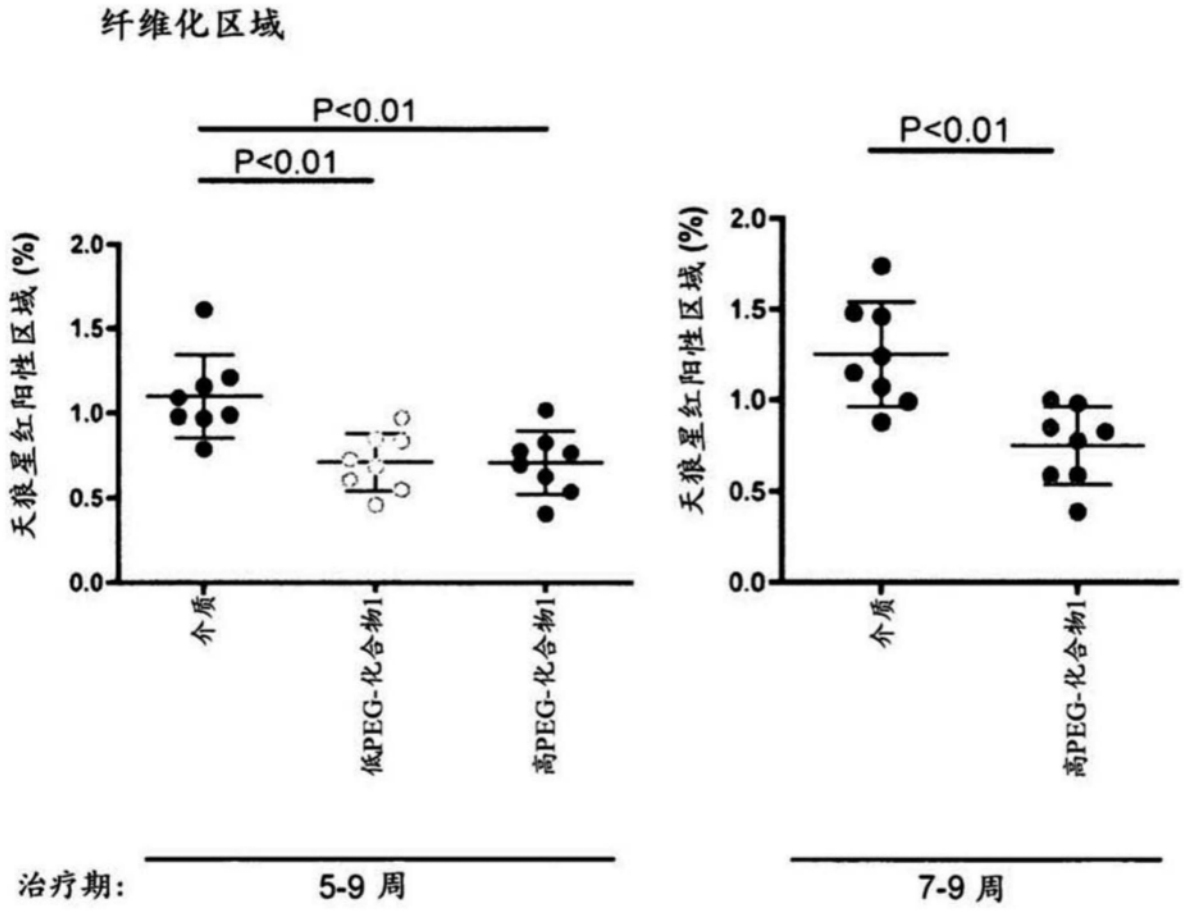

纤维化区域
P<0.01
P<0.01
P<0.01
天狼星红阳性区域 (%)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
治疗期:
5-9 周
7-9 周

图34

F4/80免疫染色肝切片的代表性的显微照片

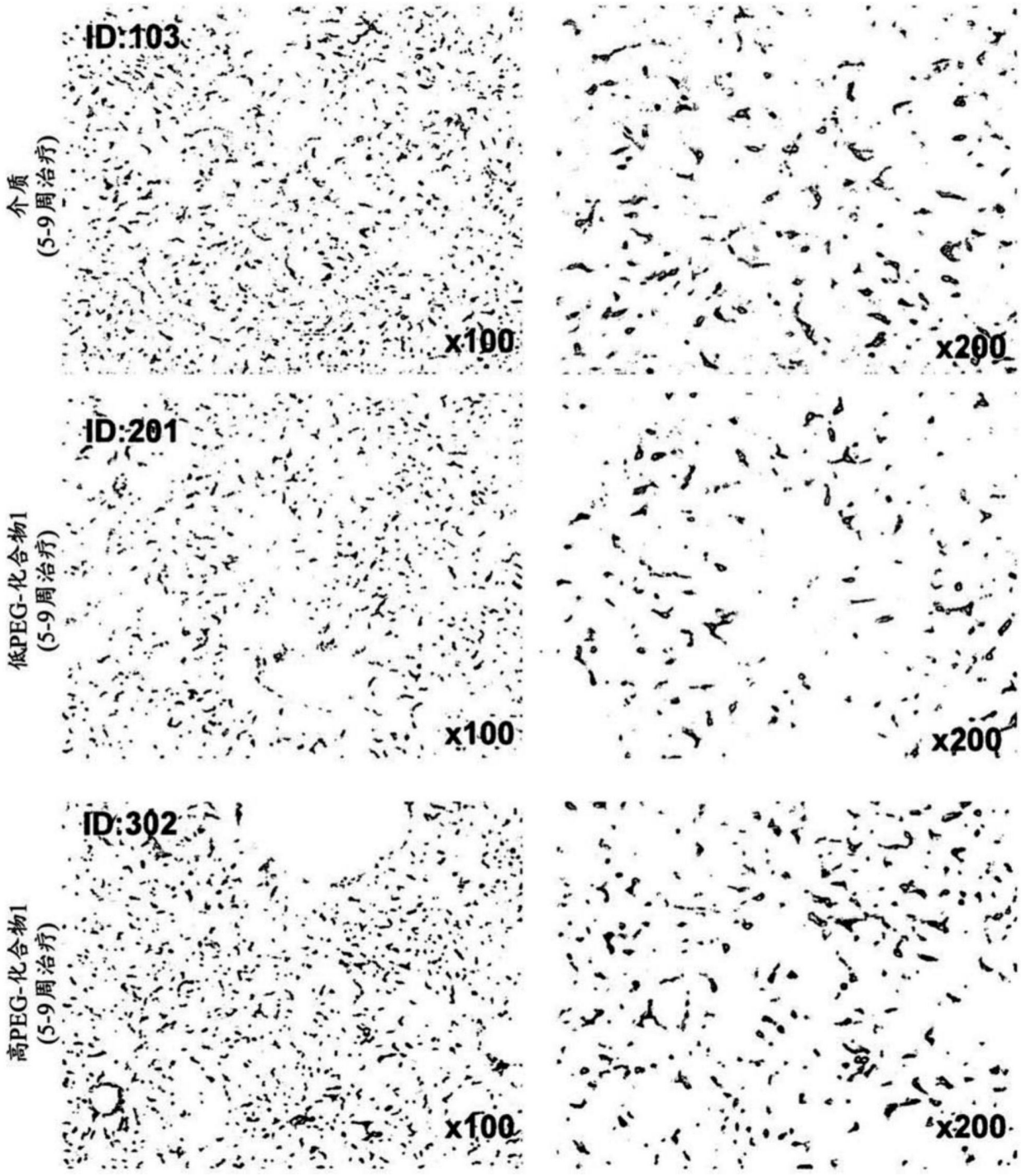


图35A

F4/80免疫染色肝切片的代表性的显微照片(续)

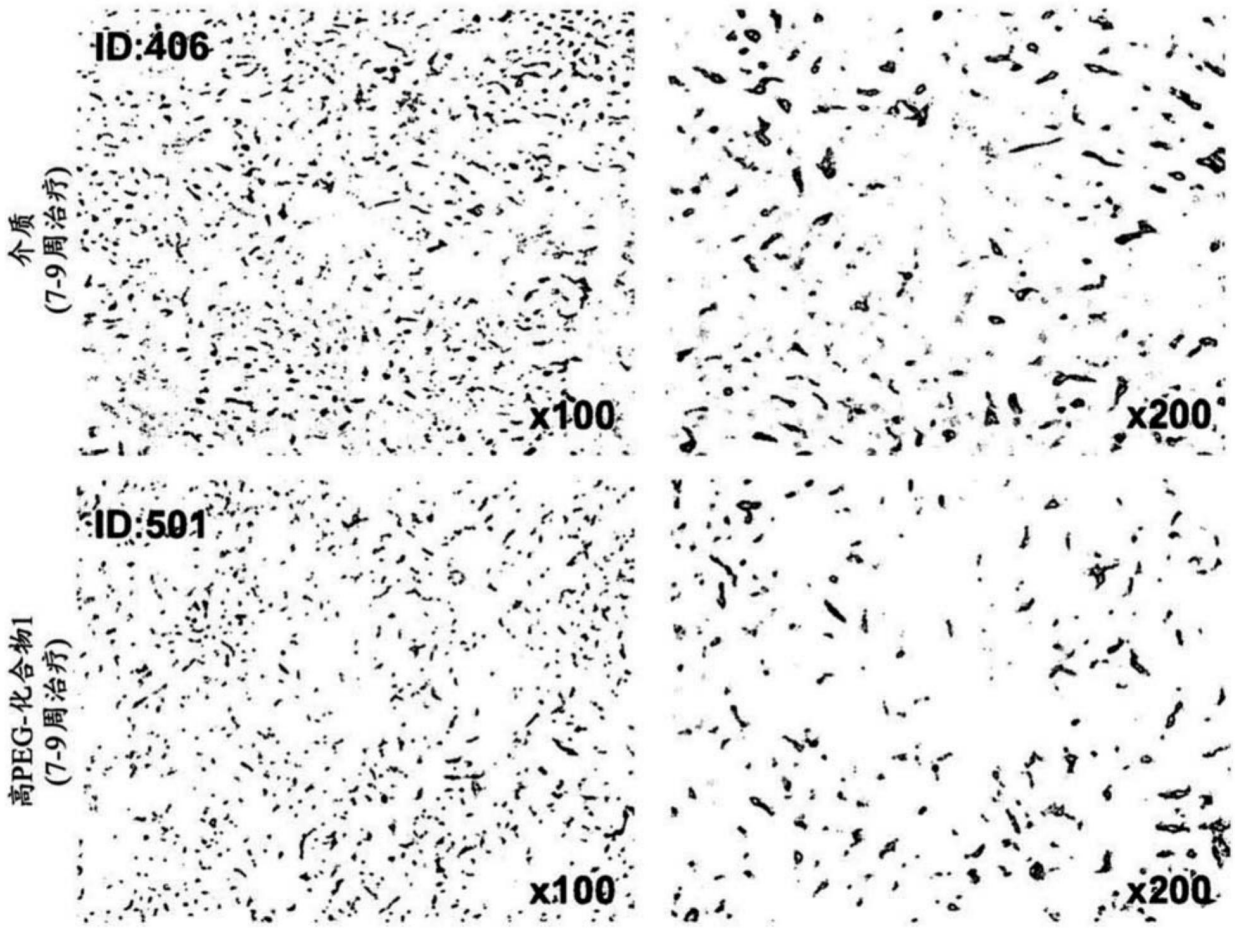


图35B

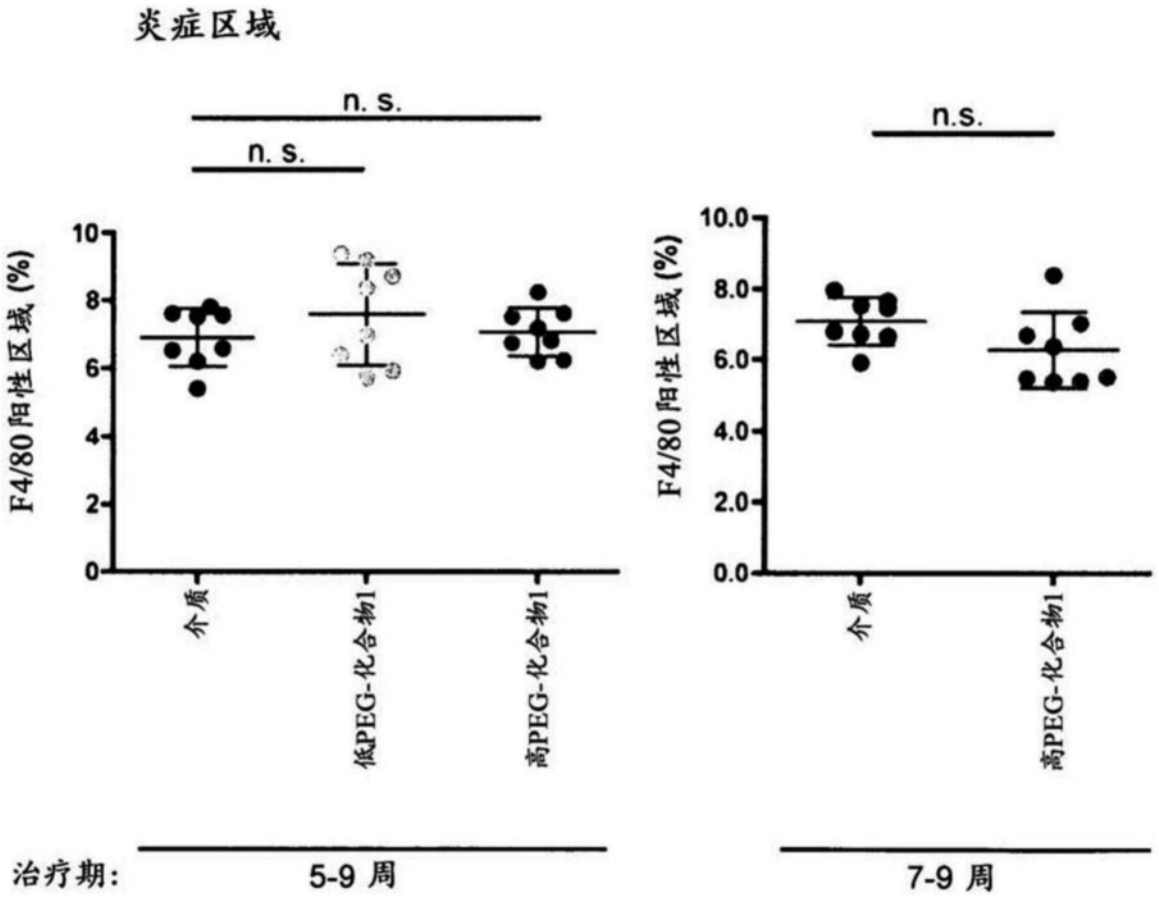

炎症区域
n. s.
n. s.
n.s.
F4/80阳性区域 (%)
10
8
6
4
2
0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质
高PEG-化合物1
治疗期:
5-9 周
7-9 周

图36

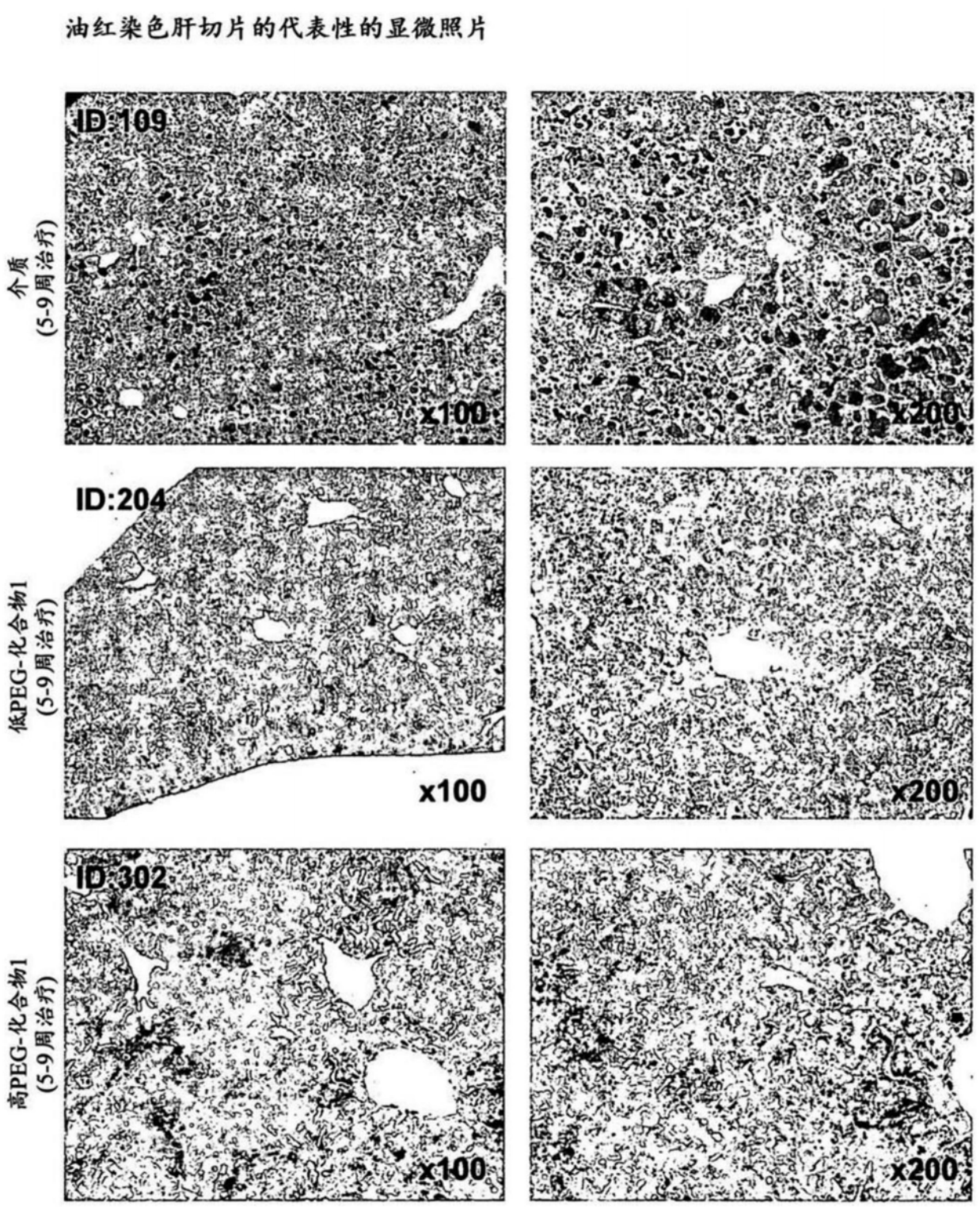

油红染色肝切片的代表性的显微照片
介质
(5-9周治疗)
ID:109
x100
x200
低PEG-化合物1
(5-9周治疗)
ID:204
x100
x200
高PEG-化合物1
(5-9周治疗)
ID:302
x100
x200

图37A

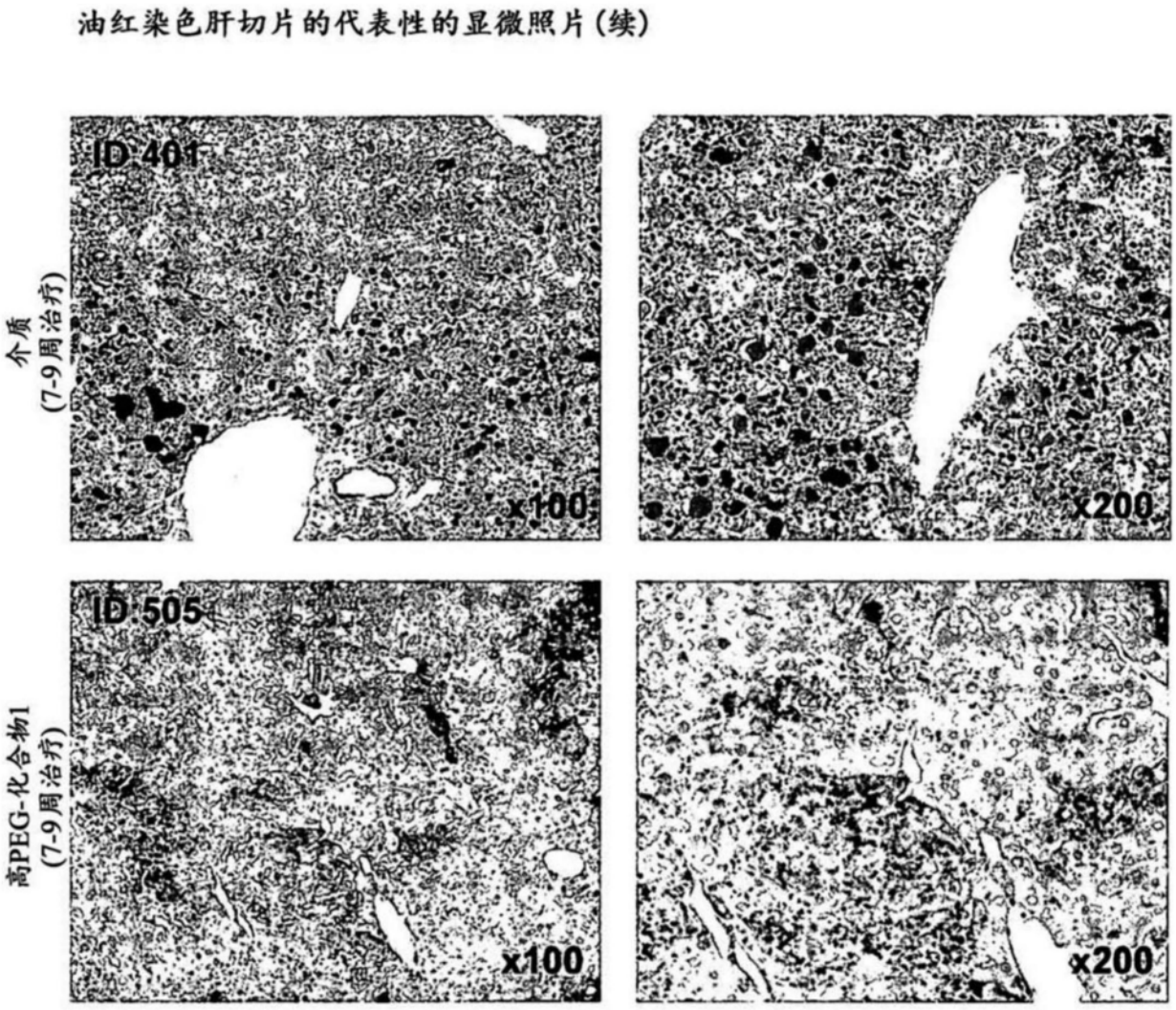

油红染色肝切片的代表性的显微照片(续)
ID 401
介质
(7-9周治疗)
x100
x200
ID 505
高PEG-化合物1
(7-9周治疗)
x100
x200

图37B

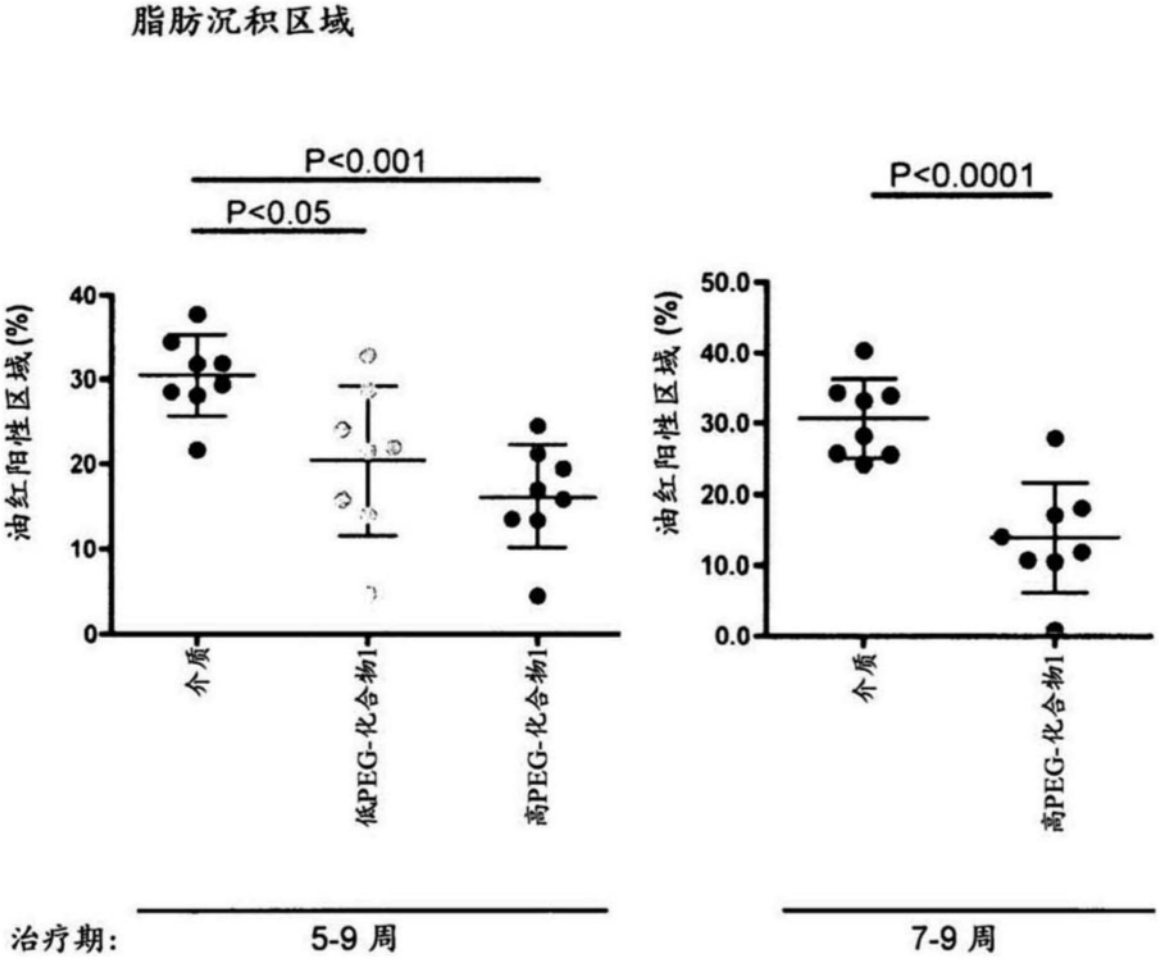

脂肪沉积区域
P<0.001
P<0.05
P<0.0001
油红阳性区域(%)
油红阳性区域 (%)
40
30
20
10
0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质
高PEG-化合物1
治疗期:
5-9 周
7-9 周

图38

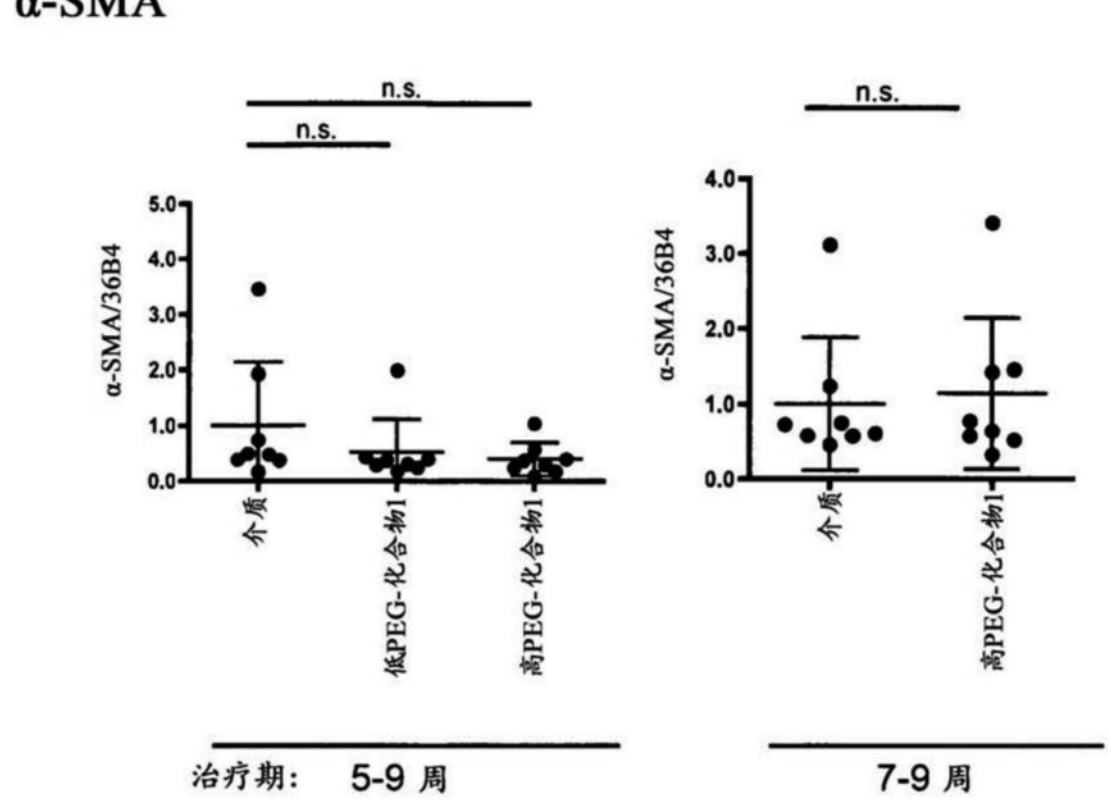

α-SMA
n.s.
n.s.
α-SMA/36B4
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
n.s.
α-SMA/36B4
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图39A

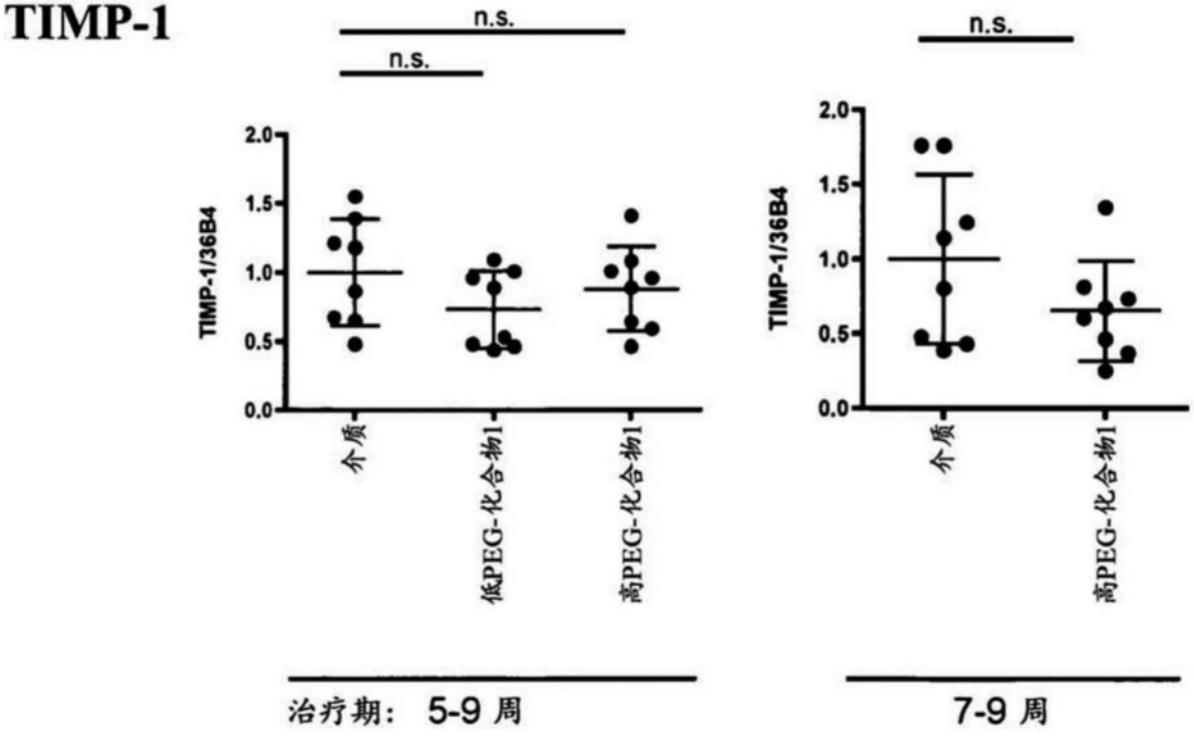

TIMP-1
n.s.
n.s.
TIMP-1/36B4
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
n.s.
TIMP-1/36B4
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图39B

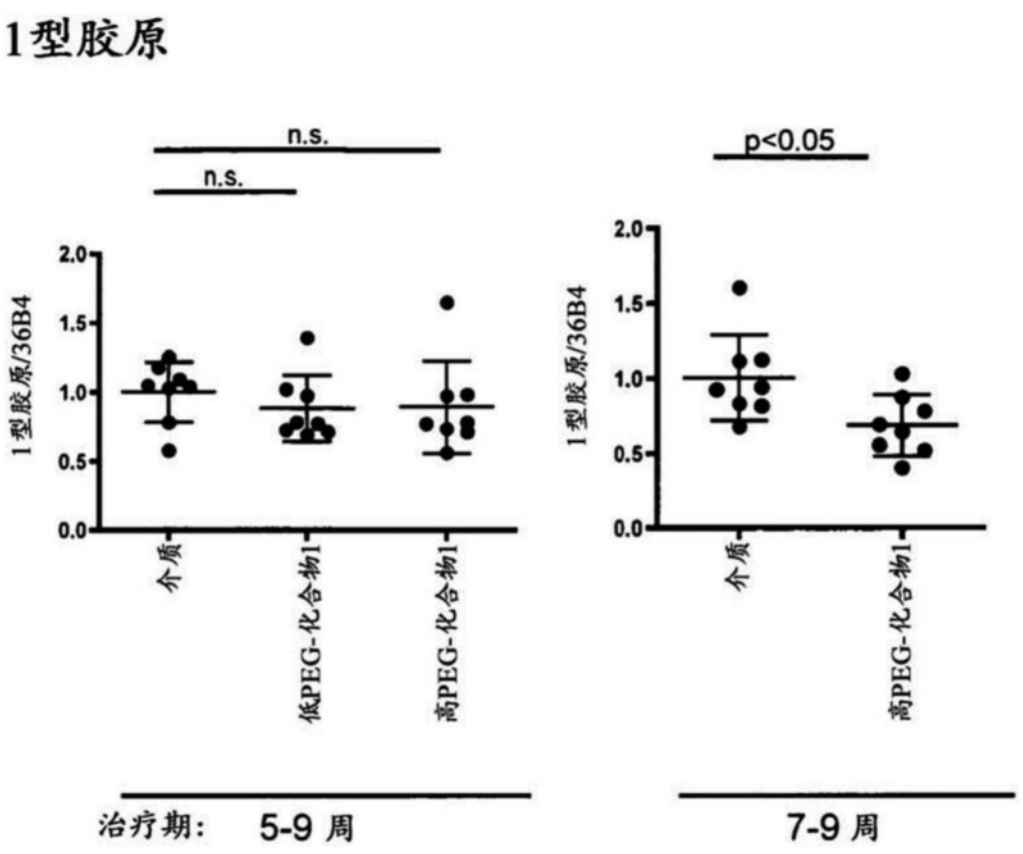

1型胶原
n.s.
n.s.
p<0.05
1型胶原/36B4
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图39C

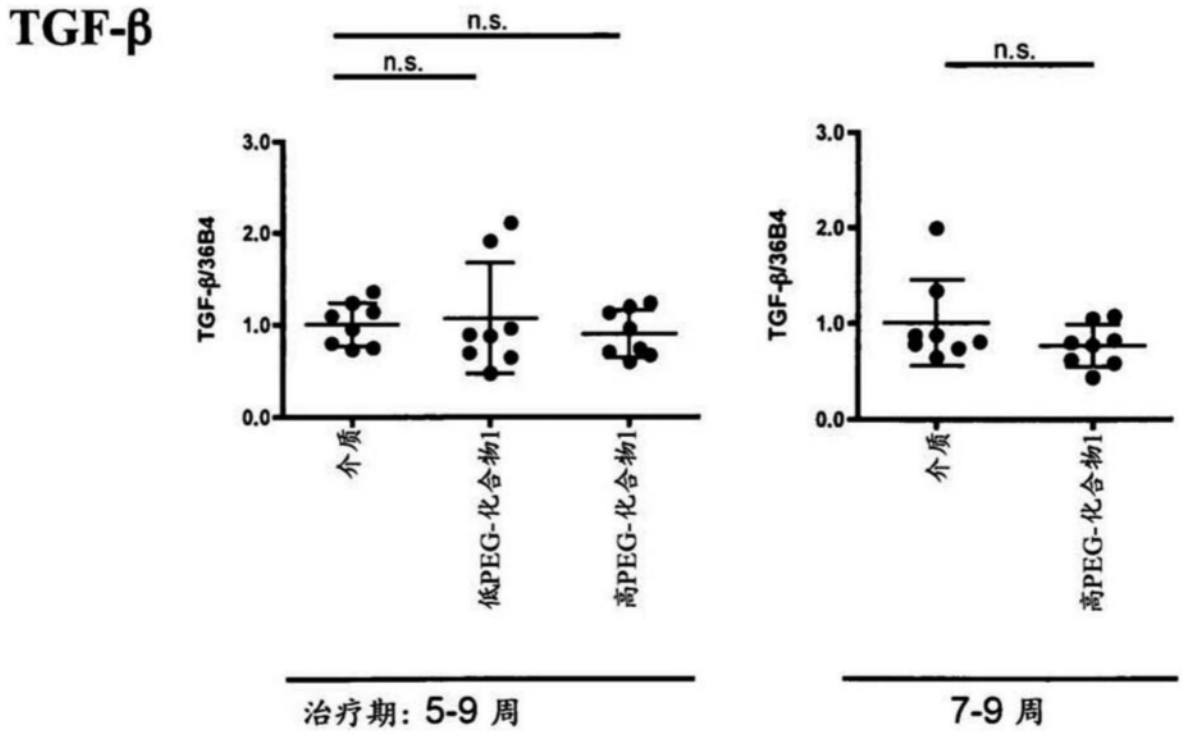

TGF-β
n.s.
n.s.
n.s.
TGF-β/36B4
3.0
2.0
1.0
0.0
介质
低PEG-化合物1
高PEG-化合物1
介质
高PEG-化合物1
治疗期: 5-9 周
7-9 周

图39D

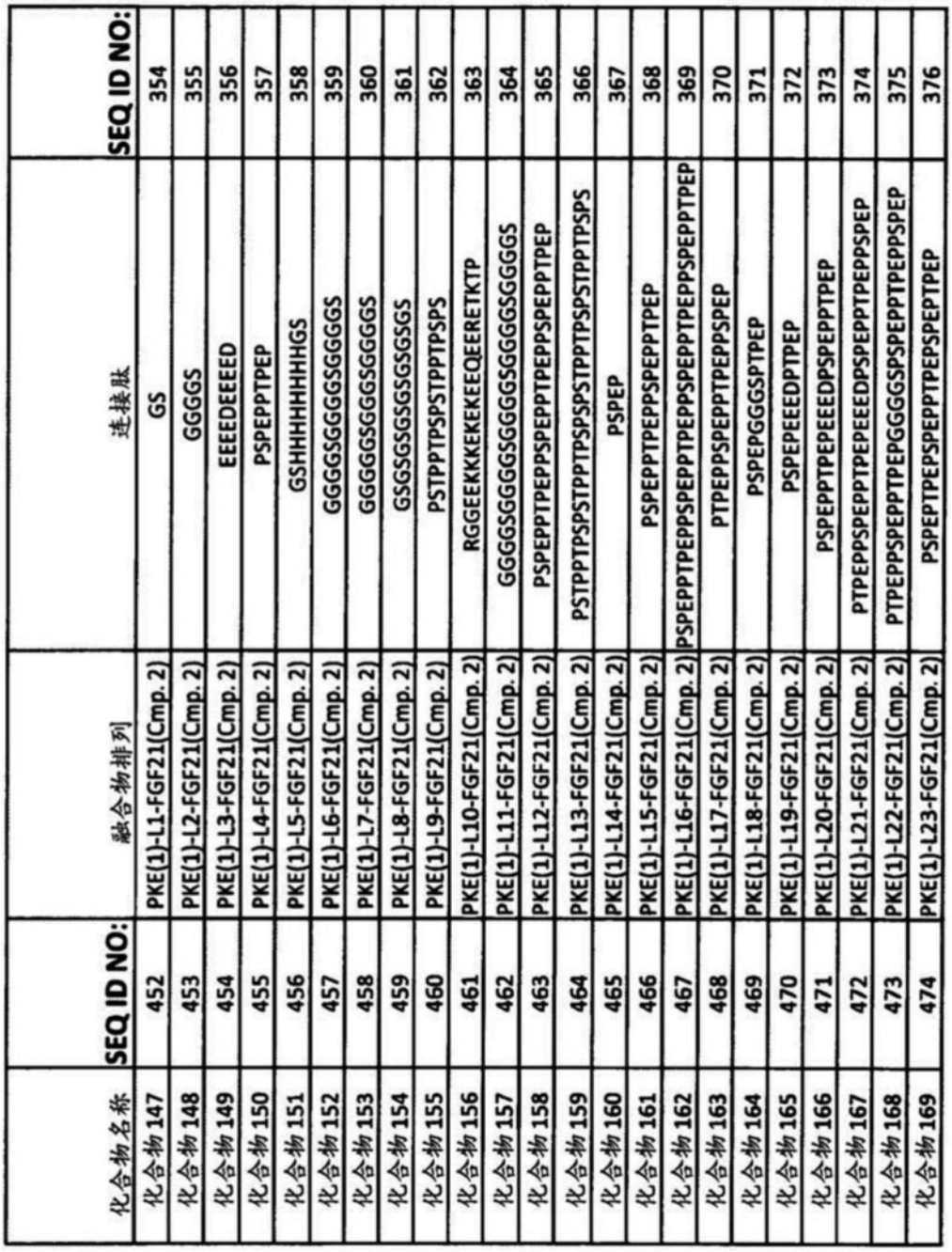
修饰的FGF-21多肽融合蛋白

化合物名称	SEQ ID NO:	融合物排列	连接肽	SEQ ID NO:
化合物101	401	PKE(2)-L1-FGF21(Cmp. 2)	GS	354
化合物102	402	PKE(2)-L2-FGF21(Cmp. 2)	GGGGS	355
化合物103	403	PKE(2)-L3-FGF21(Cmp. 2)	EEEEDEEEED	356
化合物104	404	PKE(2)-L4-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEP	357
化合物105	405	PKE(2)-L5-FGF21(Cmp. 2)	GSHHHHHHHHGS	358
化合物106	406	PKE(2)-L6-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGS	359
化合物107	407	PKE(2)-L7-FGF21(Cmp. 2)	GGGGGSGGGGSGGGGS	360
化合物108	408	PKE(2)-L8-FGF21(Cmp. 2)	GSGSGSGSGSGSGSGS	361
化合物109	409	PKE(2)-L9-FGF21(Cmp. 2)	PSTPPTPSPSTPPTPSPS	362
化合物110	410	PKE(2)-L10-FGF21(Cmp. 2)	RGGEEKKKEKEKEEQEERETKTP	363
化合物111	411	PKE(2)-L11-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	364
化合物112	412	PKE(2)-L12-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP	365
化合物113	413	PKE(2)-L13-FGF21(Cmp. 2)	PSTPPTPSPSTPPTPSPSTPPTPSPSTPPTPSPS	366
化合物114	414	PKE(2)-L14-FGF21(Cmp. 2)	PSPEP	367
化合物115	415	PKE(2)-L15-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPPSPEPPTPEP	368
化合物116	416	PKE(2)-L16-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP	369
化合物117	417	PKE(2)-L17-FGF21(Cmp. 2)	PTPEPPSPEPPTPEPPSPEP	370
化合物118	418	PKE(2)-L18-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPGGGSPTPEP	371
化合物119	419	PKE(2)-L19-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPEEEDPTPEP	372
化合物120	420	PKE(2)-L20-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEP	373
化合物121	421	PKE(2)-L21-FGF21(Cmp. 2)	PTPEPPSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEPPSPEP	374
化合物122	422	PKE(2)-L22-FGF21(Cmp. 2)	PTPEPPSPEPPTPEPGGGGSPSPEPPTPEPPSPEP	375
化合物123	423	PKE(2)-L23-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPTPEPSPEPPTPEPSPEPTPEP	376

图40A

化合物名称	SEQ ID NO:	融合物排列	连接肽	SEQ ID NO:
化合物124	424	HuSA(C34A)-L201-FGF21(Cmp. 2)	GS	354
化合物125	425	HuSA(C34A)-L202-FGF21(Cmp. 2)	GGGGS	355
化合物126	426	HuSA(C34A)-L203-FGF21(Cmp. 2)	GETGS	377
化合物127	427	HuSA(C34A)-L204-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGS	378
化合物128	428	HuSA(C34A)-L205-FGF21(Cmp. 2)	GETGSSGEGT	379
化合物129	429	HuSA(C34A)-L206-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGS	359
化合物130	430	HuSA(C34A)-L207-FGF21(Cmp. 2)	GETGSSGEGTGSTGS	380
化合物131	431	HuSA(C34A)-L208-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	381
化合物132	432	HuSA(C34A)-L209-FGF21(Cmp. 2)	GETGSSGEGTGSTGSGAGES	382
化合物133	434	HuSA(C34A, des Leu-585)-L211-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGS	359
化合物134	435	HuSA(C34A, des Leu-585)-L207-FGF21(Cmp. 2)	GETGSSGEGTGSTGS	380
化合物135	436	HuSA(C34A, des Leu-585)-L211-FGF21(Cmp. 1)	GGGGSGGGGSGGGGS	359
化合物136	437	HuSA(C34A, des Leu-585)-L207-FGF21(Cmp. 1)	GETGSSGEGTGSTGS	380
化合物137	440	FGF21(Cmp. 2)-L205-HuSA(C34A)	GETGSSGEGT	379
化合物138	441	FGF21(Cmp. 2)-L209-HuSA(C34A)	GETGSSGEGTGSTGSGAGES	382
化合物139	442	FGF21(Cmp. 2)-L210-HuSA(C34A)	GETGSSGEGTGSTGSGAGESGTGESGEGGS	383
化合物140	443	FGF21(Cmp. 1)-L209-HuSA(C34A)	GETGSSGEGTGSTGSGAGES	382
化合物141	446	FGF21(Cmp. 2)-L209-HuSA(C34A)-G4Sx3-FGF21(Cmp. 2)	GETGSSGEGTGSTGSGAGES	382
化合物142	447	FGF21(Cmp. 1)-L209-HuSA(C34A)-G4Sx3-FGF21(Cmp. 1)	GETGSSGEGTGSTGSGAGES	382
化合物143	448	FGF21(Cmp. 2)-L209-HuSA(C34A, des Leu-585)-G4Sx3-FGF21(Cmp. 2)	GETGSSGEGTGSTGSGAGES	382
化合物144	449	FGF21(Cmp. 1)-L209-HuSA(C34A, des Leu-585)-G4Sx3-FGF21(Cmp. 1)	GETGSSGEGTGSTGSGAGES	382
化合物145	450	FGF21(Cmp. 2)-L210-HuSA(C34A)-G4Sx3-FGF21(Cmp. 2)	GETGSSGEGTGSTGSGAGESGTGESGEGGS	383
化合物146	451	FGF21(Cmp. 1)-L210-HuSA(C34A)-G4Sx3-FGF21(Cmp. 1)	GETGSSGEGTGSTGSGAGESGTGESGEGGS	383

图40B



化合物名称	SEQ ID NO:	融合物排列	连接肽	SEQ ID NO:
化合物147	452	PKE(1)-L1-FGF21(Cmp. 2)	GS	354
化合物148	453	PKE(1)-L2-FGF21(Cmp. 2)	GGGGS	355
化合物149	454	PKE(1)-L3-FGF21(Cmp. 2)	EEEEDEEEED	356
化合物150	455	PKE(1)-L4-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEP	357
化合物151	456	PKE(1)-L5-FGF21(Cmp. 2)	GSHHHHHHHHGS	358
化合物152	457	PKE(1)-L6-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGS	359
化合物153	458	PKE(1)-L7-FGF21(Cmp. 2)	GGGGGSGGGGSGGGGS	360
化合物154	459	PKE(1)-L8-FGF21(Cmp. 2)	GSGSGSGSGSGSGSGS	361
化合物155	460	PKE(1)-L9-FGF21(Cmp. 2)	PSTPPTPSPSTPPTPSPS	362
化合物156	461	PKE(1)-L10-FGF21(Cmp. 2)	RGGEEKKKEKEKEEQEERETKTP	363
化合物157	462	PKE(1)-L11-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	364
化合物158	463	PKE(1)-L12-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP	365
化合物159	464	PKE(1)-L13-FGF21(Cmp. 2)	PSTPPTPSPSTPPTPSPSTPPTPSPSTPPTPSPS	366
化合物160	465	PKE(1)-L14-FGF21(Cmp. 2)	PSPEP	367
化合物161	466	PKE(1)-L15-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPPSPEPPTPEP	368
化合物162	467	PKE(1)-L16-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP	369
化合物163	468	PKE(1)-L17-FGF21(Cmp. 2)	PTPEPPSPEPPTPEPPSPEP	370
化合物164	469	PKE(1)-L18-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPGGGSPTPEP	371
化合物165	470	PKE(1)-L19-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPEEEDPTPEP	372
化合物166	471	PKE(1)-L20-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEP	373
化合物167	472	PKE(1)-L21-FGF21(Cmp. 2)	PTPEPPSPEPPTPEPEEEDPSPEPPTPEPPSPEP	374
化合物168	473	PKE(1)-L22-FGF21(Cmp. 2)	PTPEPPSPEPPTPEPGGGGSPSPEPPTPEPPSPEP	375
化合物169	474	PKE(1)-L23-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPTPEPSPEPPTPEPSPEPTPEP	376

图40C

化合物名称	SEQ ID NO:	融合物排列	连接肽	SEQ ID NO:
化合物 170	475	Fc(hIgG1a_191)-L7-FGF21(Cmp. 2)	GGGGGSGGGSGGGGS	360
化合物 171	476	Fc(hIgG1a_191)-L250-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	350
化合物 172	477	Fc(hIgG1a_191)-L12-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPPSPEPPTPEPPSPEPPTPEP	365
化合物 173	478	Fc(hIgG1a_191)-L251-FGF21(Cmp. 2)	PSPEPPTPEPPSPEP	351
化合物 174	479	Fc(hIgG1a_191)-L5-FGF21(Cmp. 2)	GSHHHHHHHHHS	358
化合物 175	480	Fc(hIgG1a_191)-L252-FGF21(Cmp. 2)	ELQLEESAAEAQEGELE	352
化合物 176	481	Fc(hIgG1a_190)-L253-FGF21(Cmp. 2)	SSGGGGSGGGGSGGGGS	353
化合物 177	482	Fc(hIgG1a_191)-L6-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGS	359
化合物 178	483	Fc(hIgG1a_189)-L6-FGF21(Cmp. 2)	GGGGSGGGGSGGGGS	359
化合物 179	484	Fc(hIgG1a_191)-L7-FGF21-1aa(Cmp. 2)	GGGGGSGGGGSGGGGS	360
化合物 180	485	Fc(hIgG1a_191)-L7-FGF21-3aa(Cmp. 2)	GGGGGSGGGGSGGGGS	360
化合物 181	486	Fc(hIgG1f_1.1_186)-L7-FGF21 (Cmp. 2)	GGGGGSGGGGSGGGGS	360
化合物 182	487	Fc(hIgG1a_191b)-L7-FGF21(Cmp. 2)	GGGGGSGGGGSGGGGS	360

图40D

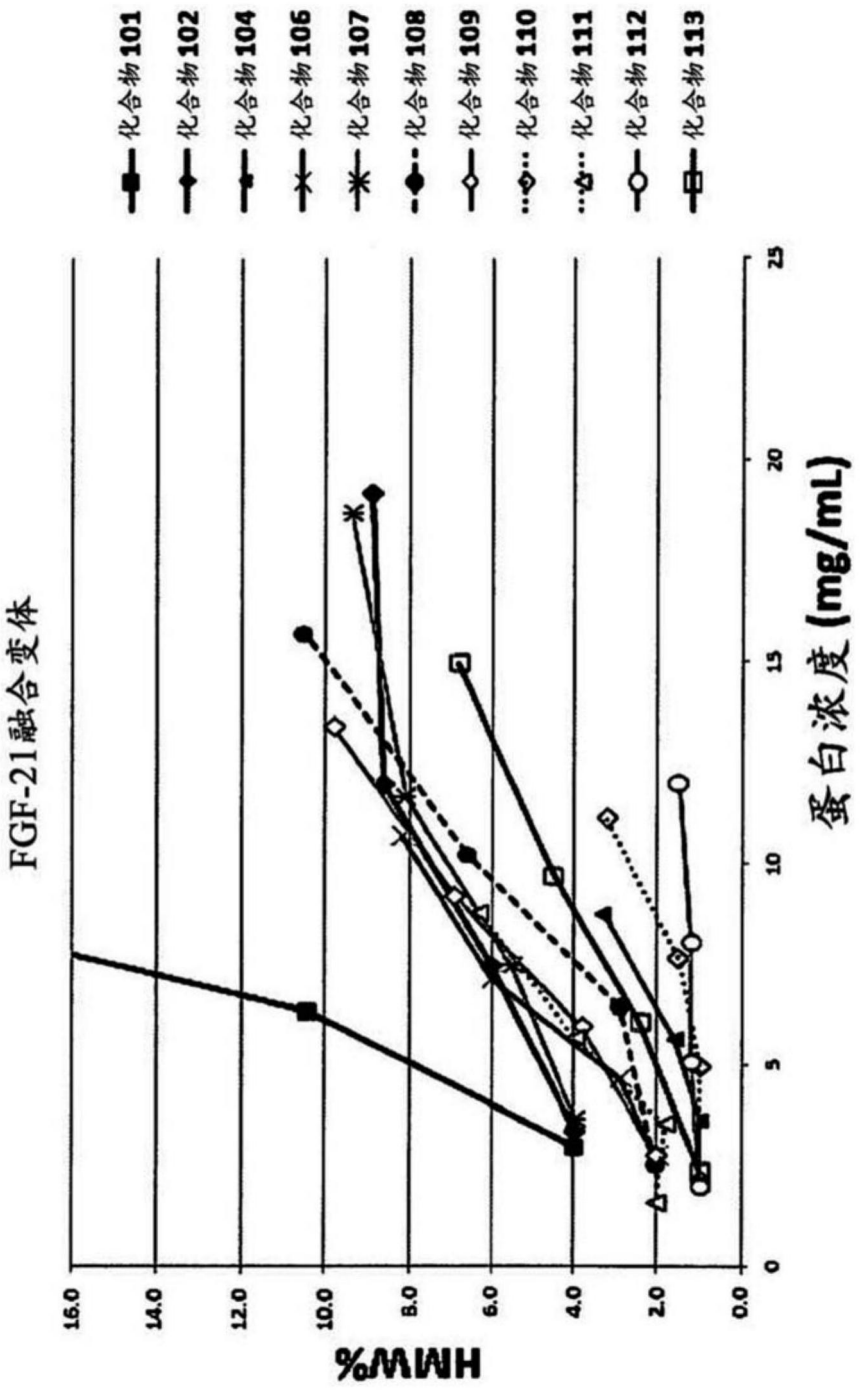

化合物101
化合物102
化合物104
化合物106
化合物107
化合物108
化合物109
化合物110
化合物111
化合物112
化合物113
FGF-21融合变体
HMW%
16.0
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
蛋白浓度 (mg/mL)
0
5
10
15
20
25

图41

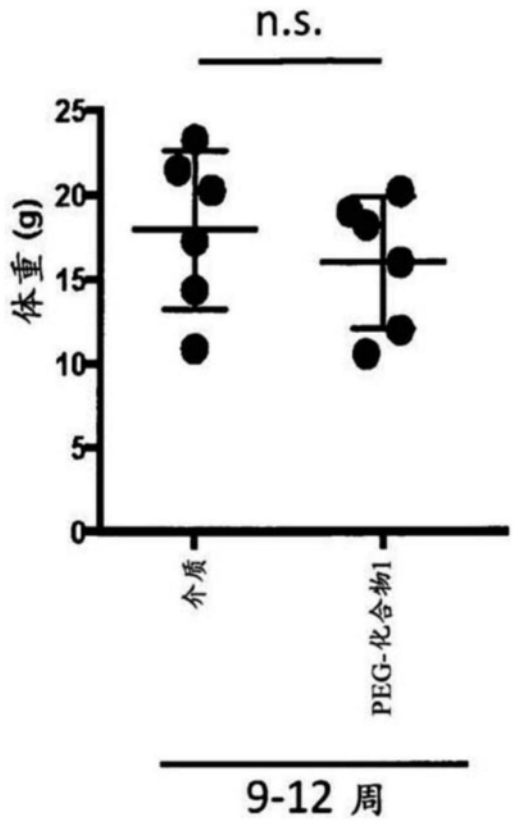


图42A

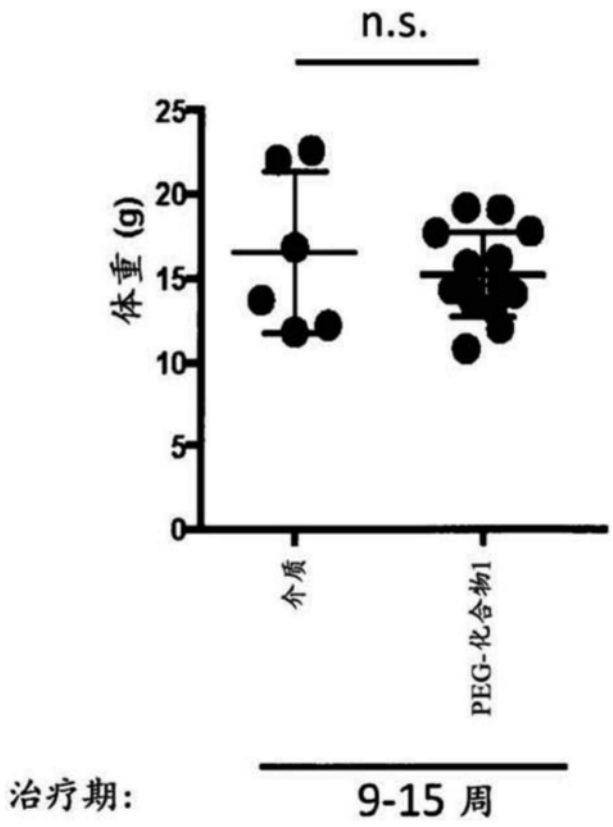


图42B

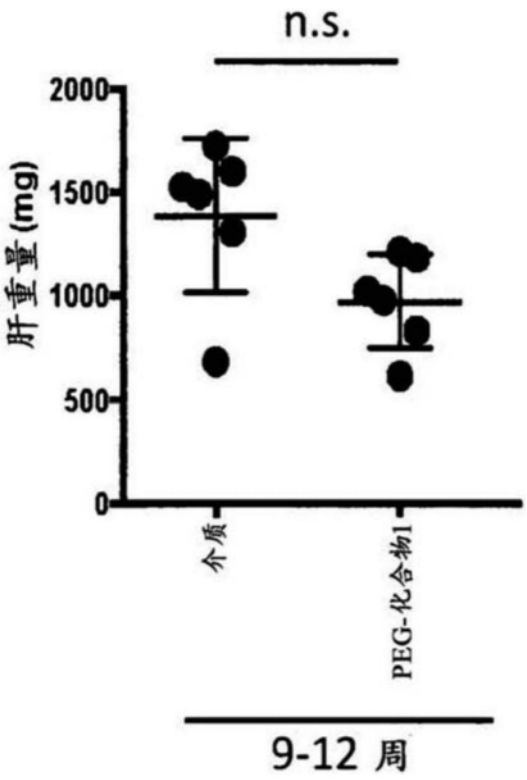

n.s.
肝重量(mg)
2000
1500
1000
500
0
介质
PEG-化合物1
9-12 周

图43A

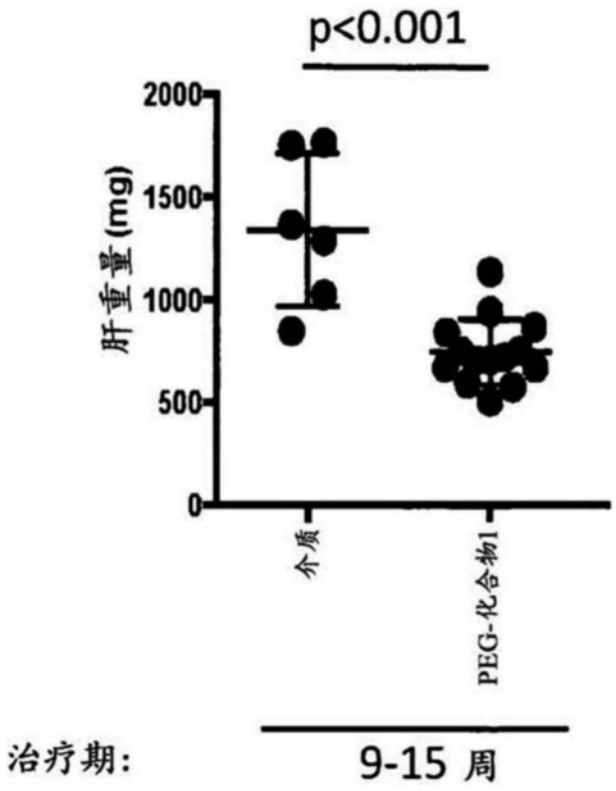

p<0.001
肝重量(mg)
2000
1500
1000
500
0
介质
PEG-化合物1
治疗期:
9-15 周

图43B

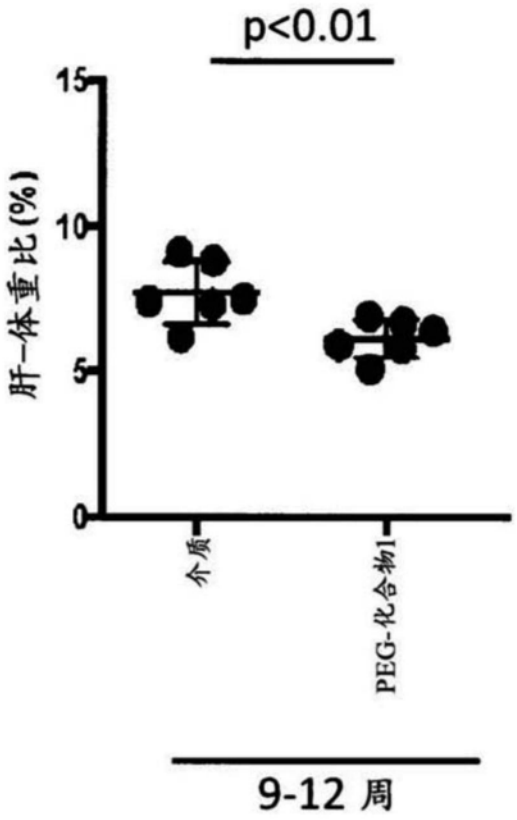


图44A

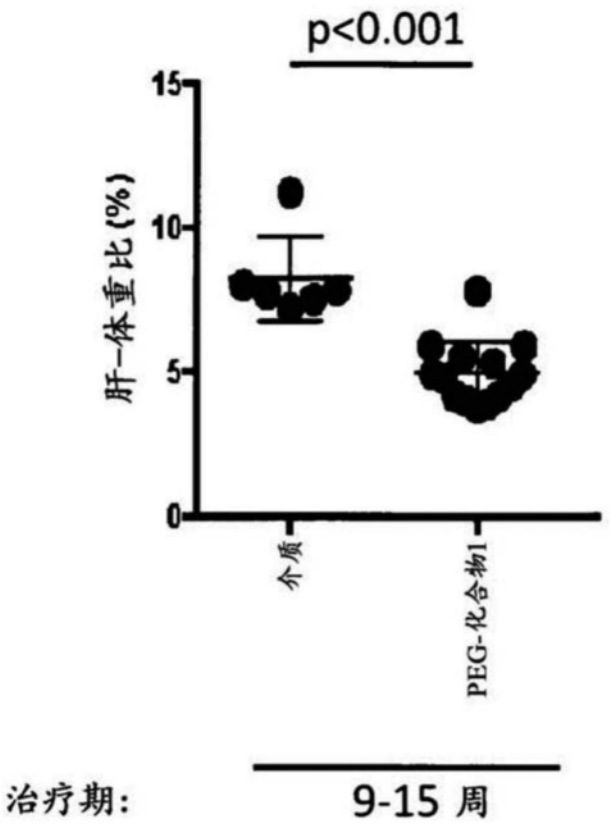


图44B

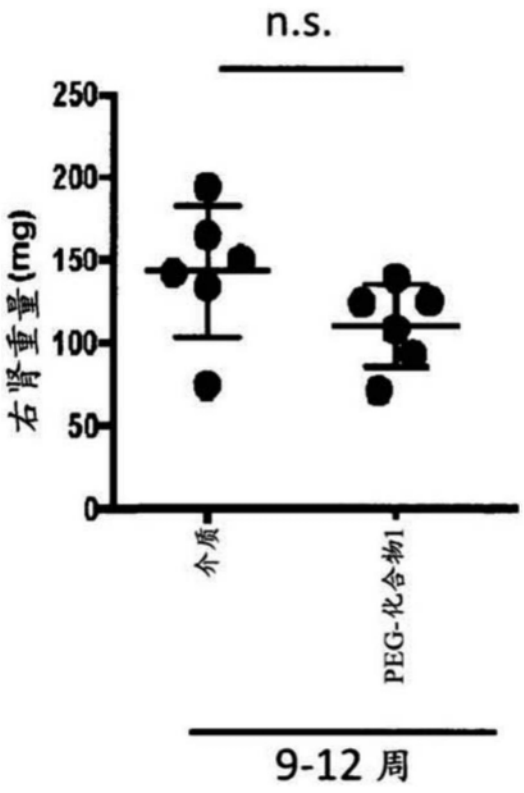

n.s.
250
200
150
100
50
0
右肾重量(mg)
介质
PEG-化合物1
9-12 周

图45A

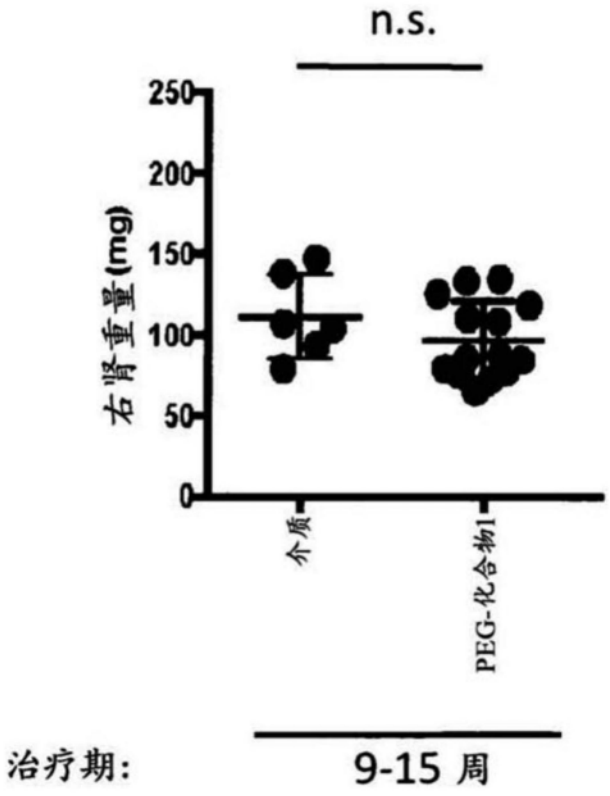

n.s.
250
200
150
100
50
0
右肾重量(mg)
介质
PEG-化合物1
治疗期:
9-15 周

图45B

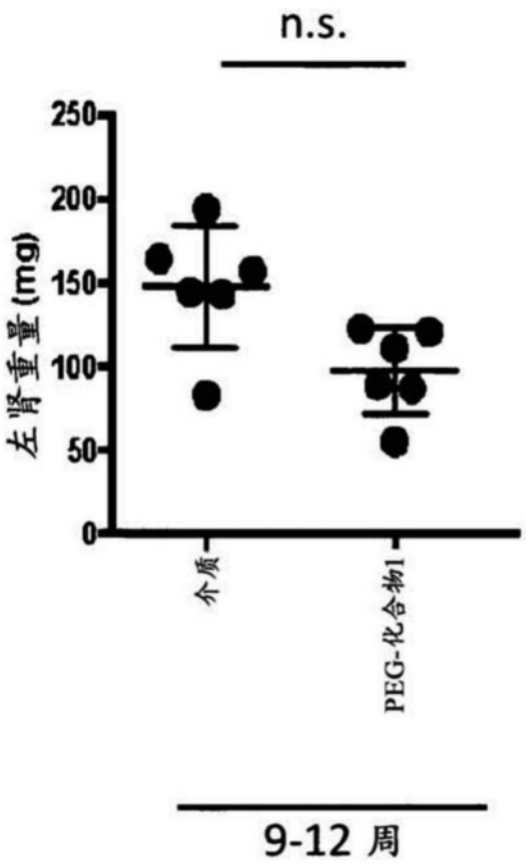


图46A

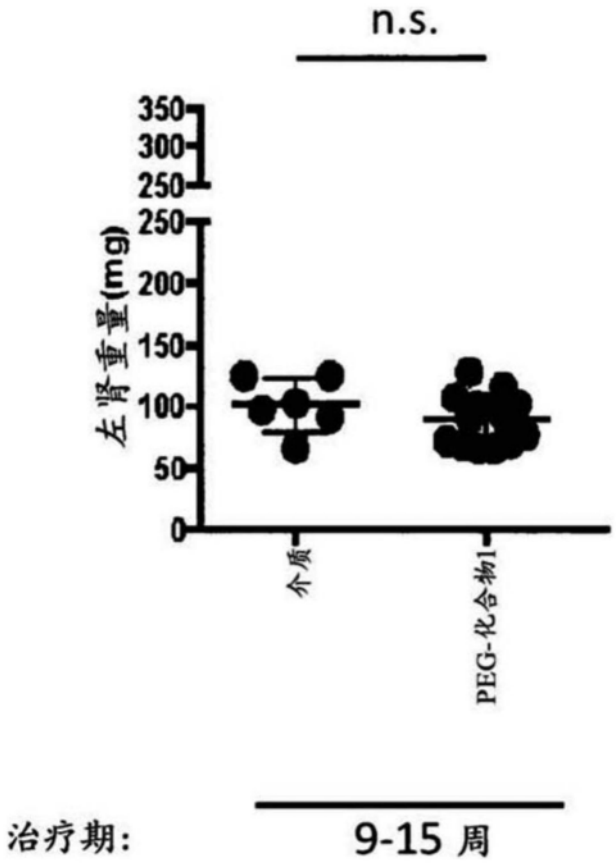


图46B

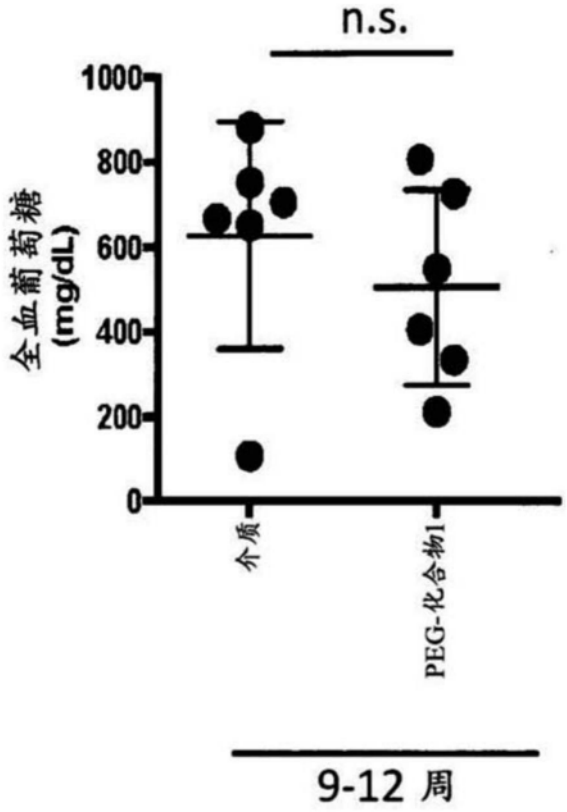


图47A

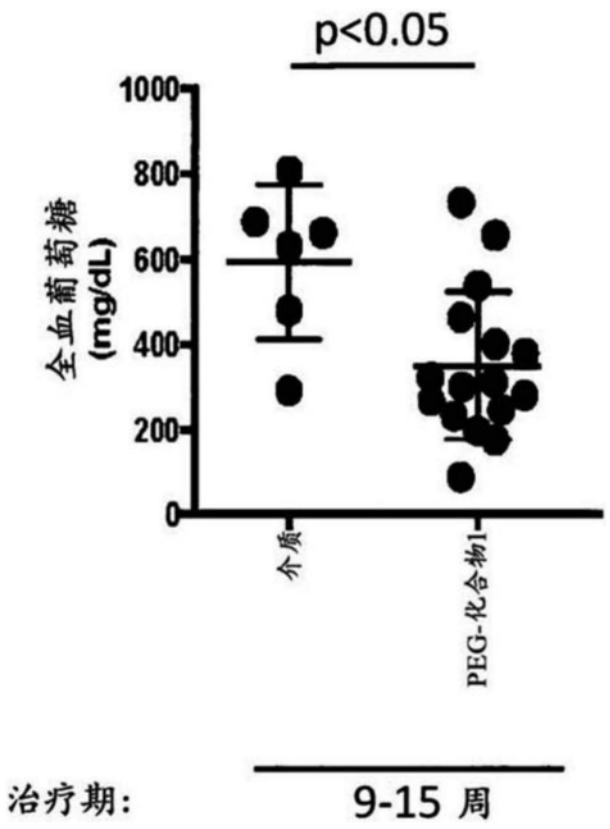


图47B

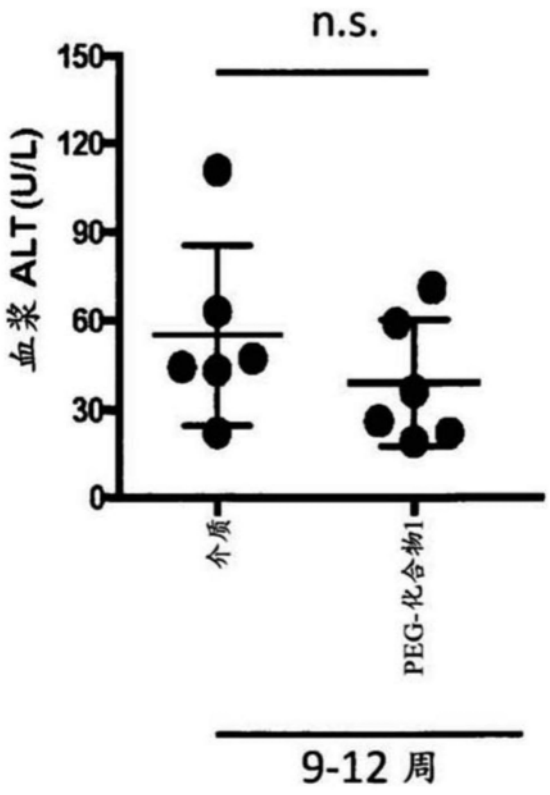

n.s.
150
120
90
60
30
0
血浆 ALT (U/L)
介质
PEG-化合物1
9-12 周

图48A

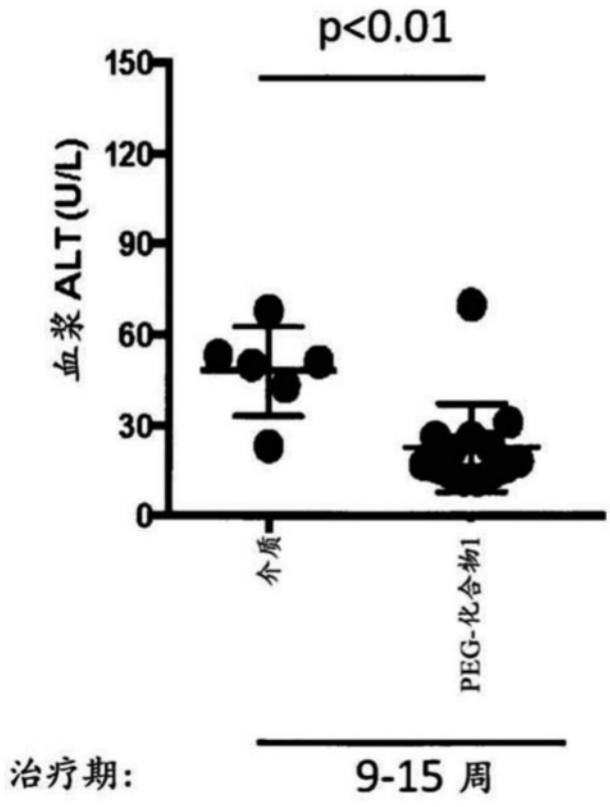

p<0.01
150
120
90
60
30
0
血浆 ALT (U/L)
介质
PEG-化合物1
治疗期:
9-15 周

图48B

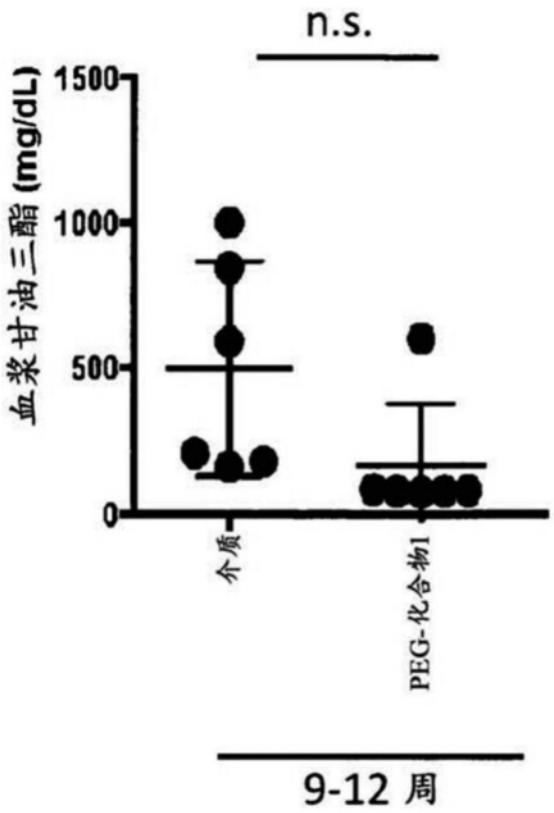


图49A

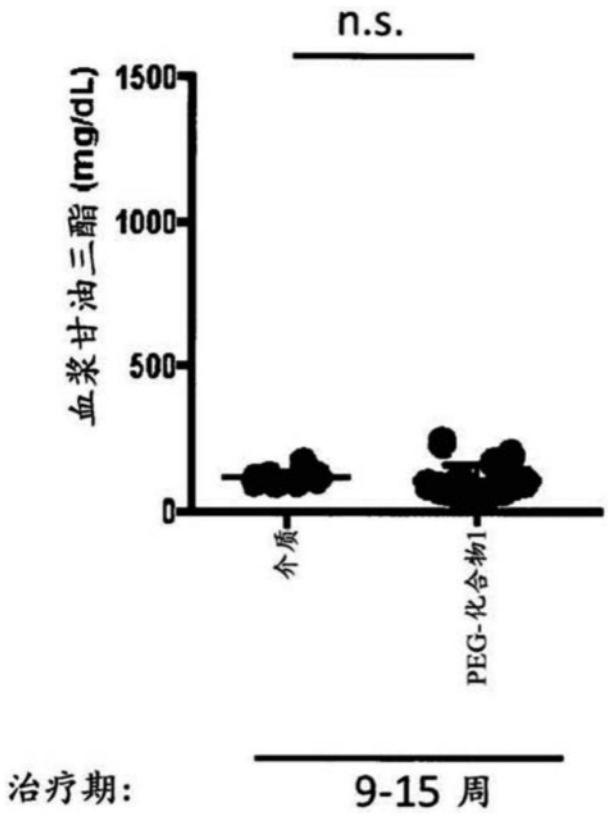


图49B

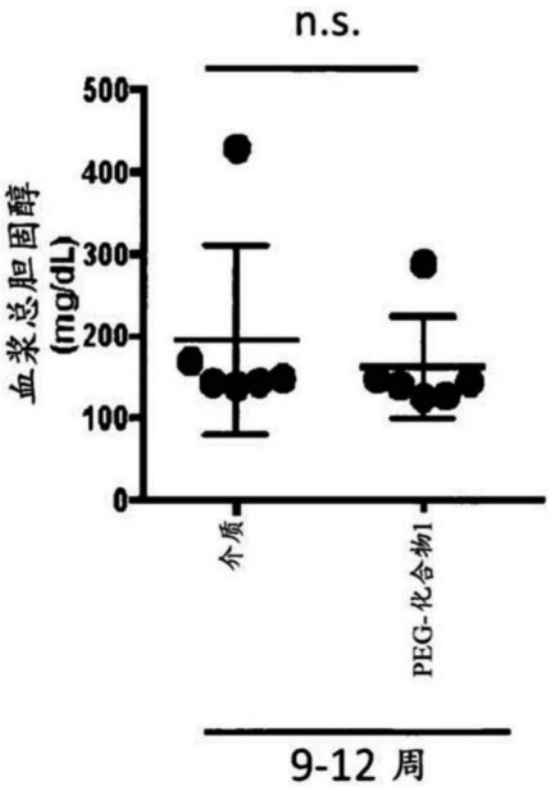

n.s.
血浆总胆固醇 (mg/dL)
500
400
300
200
100
0
介质
PEG-化合物1
9-12 周

图50A

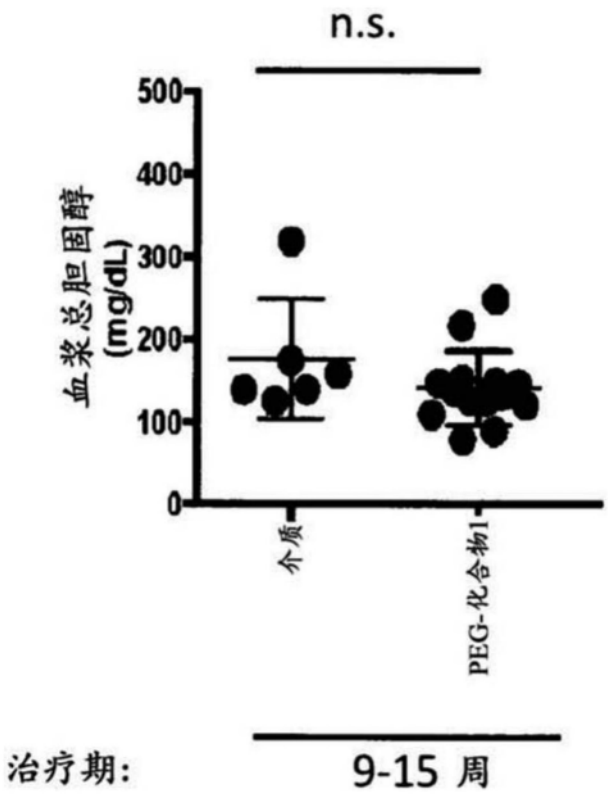

n.s.
血浆总胆固醇 (mg/dL)
500
400
300
200
100
0
介质
PEG-化合物1
治疗期:
9-15 周

图50B

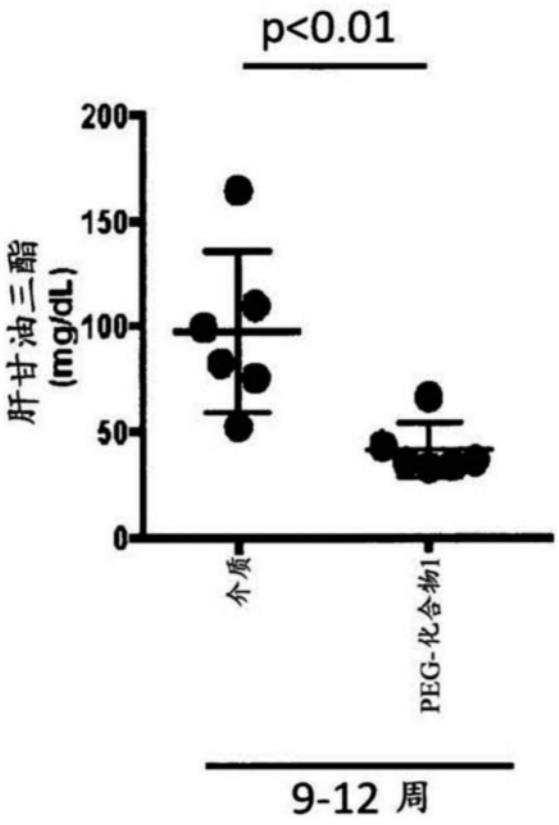


图51A

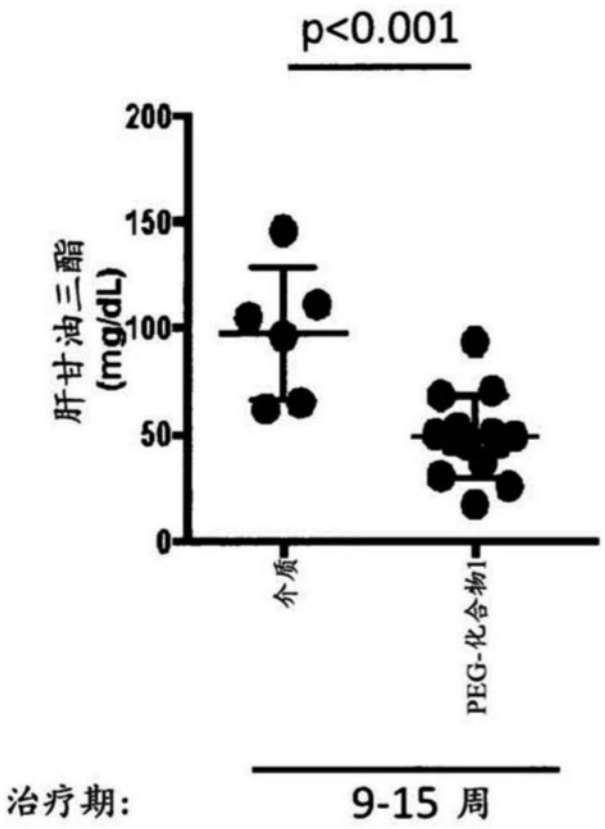


图51B

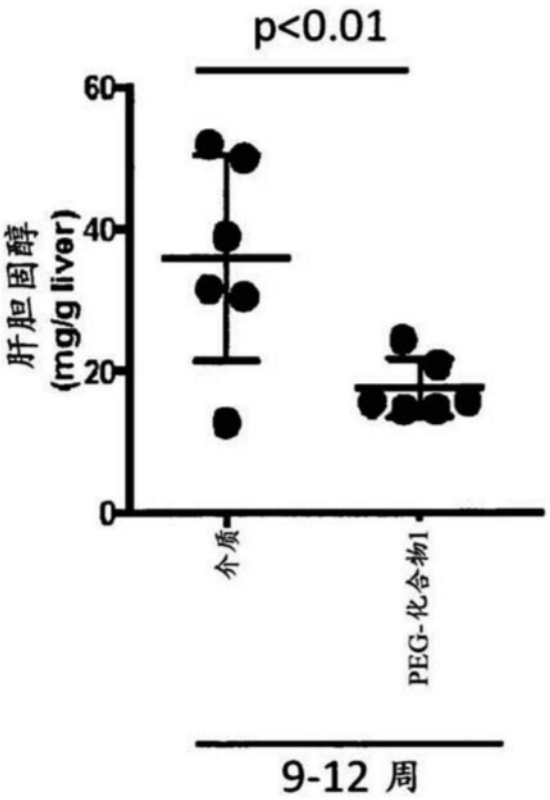


图52A

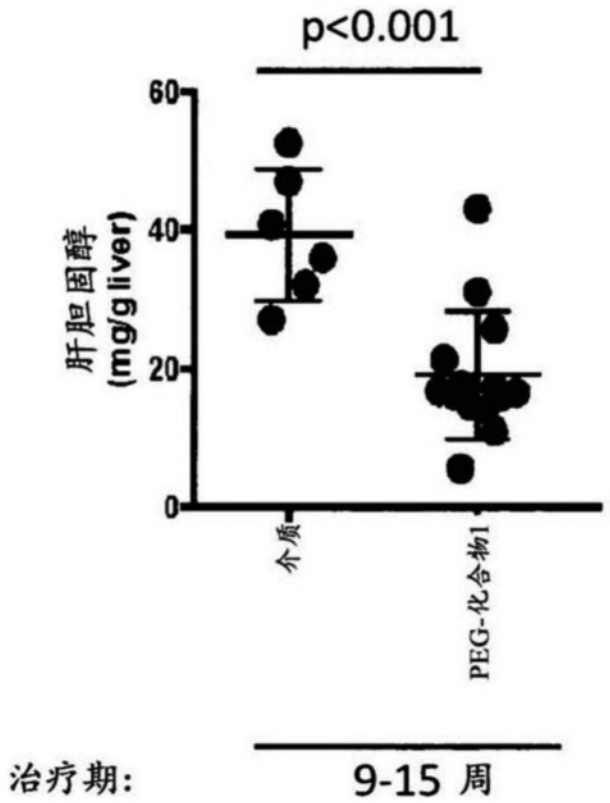

p<0.001
肝胆固醇
(mg/g liver)
60
40
20
0
介质
PEG-化合物1
治疗期:
9-15 周

图52B

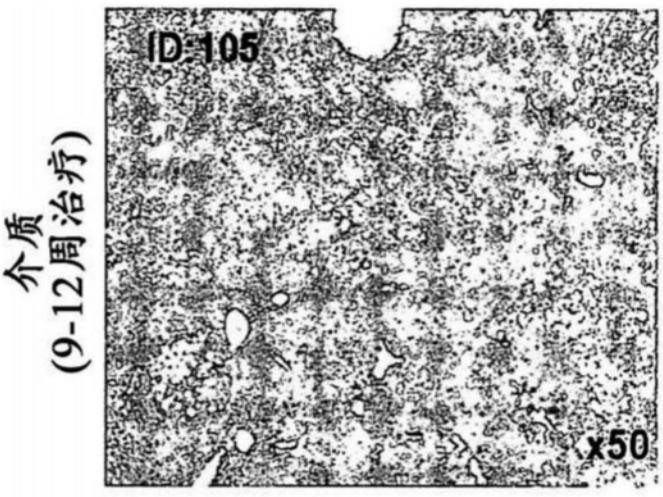

介质
(9-12周治疗)
ID:105
x50

图53A

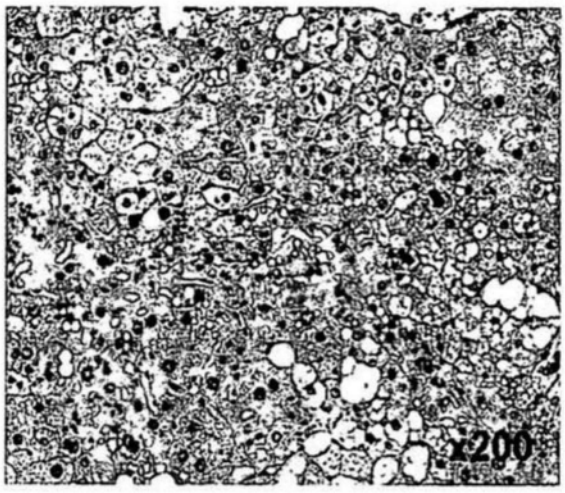


图53B



图53C

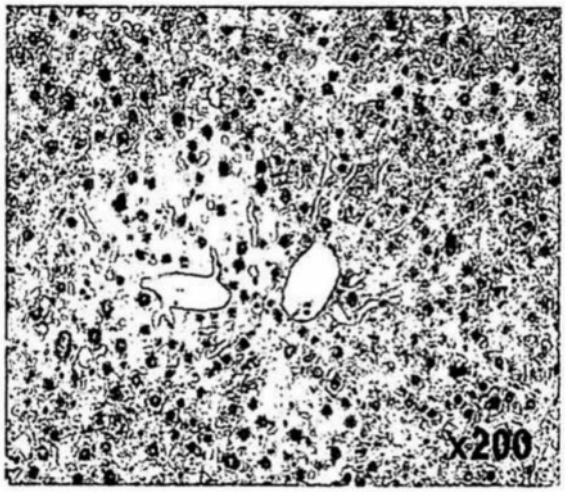


图53D

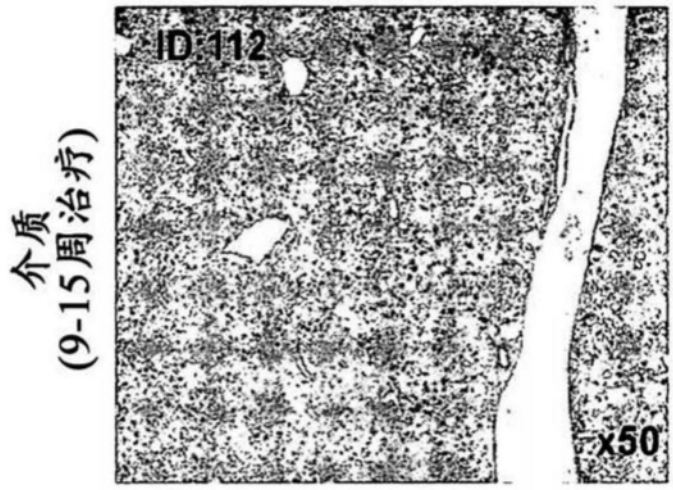


图53E

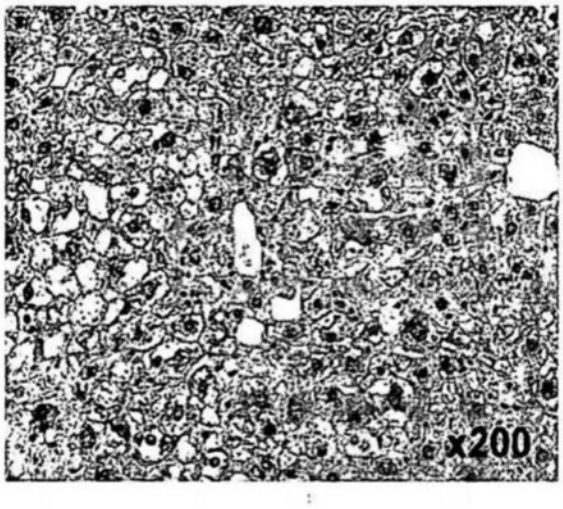


图53F



图53G

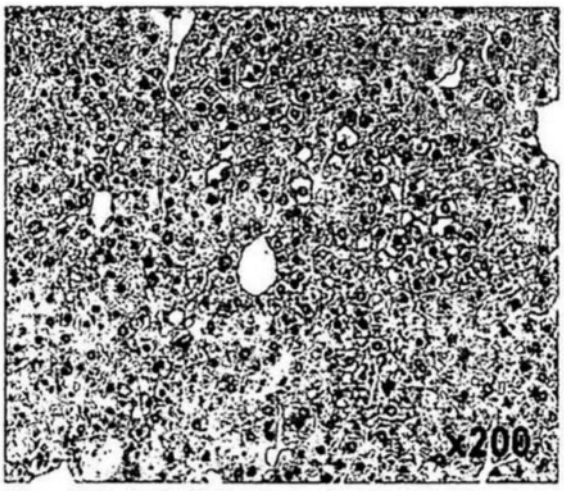


图53H

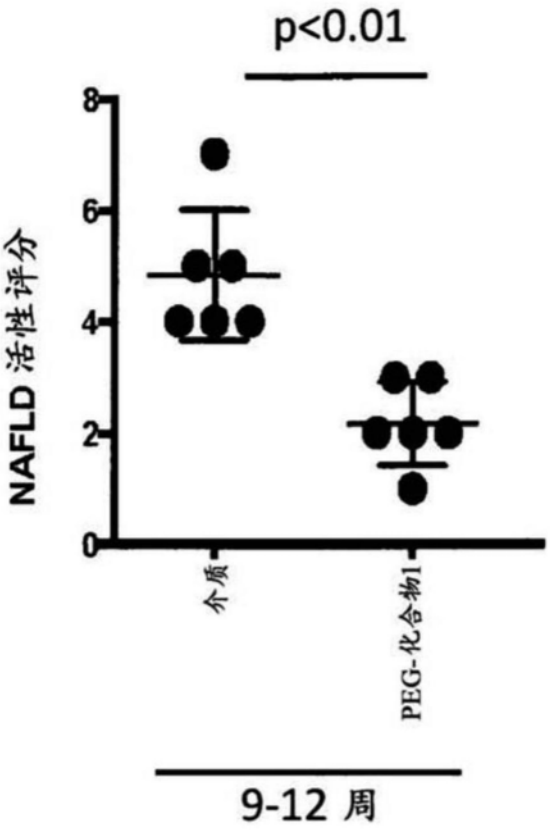


图54A

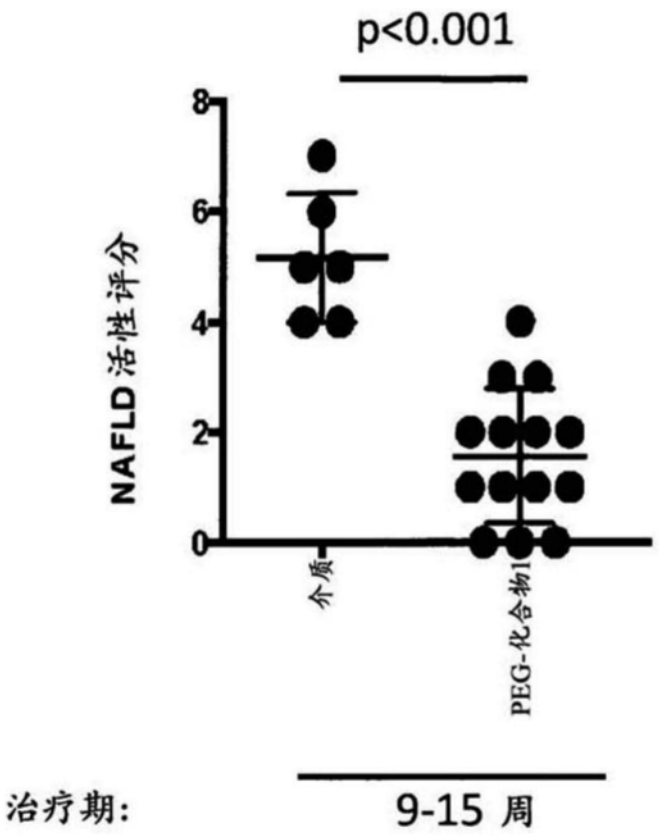

p<0.001
NAFLD活性评分
8
6
4
2
0
介质
PEG-化合物1
治疗期:
9-15 周

图54B

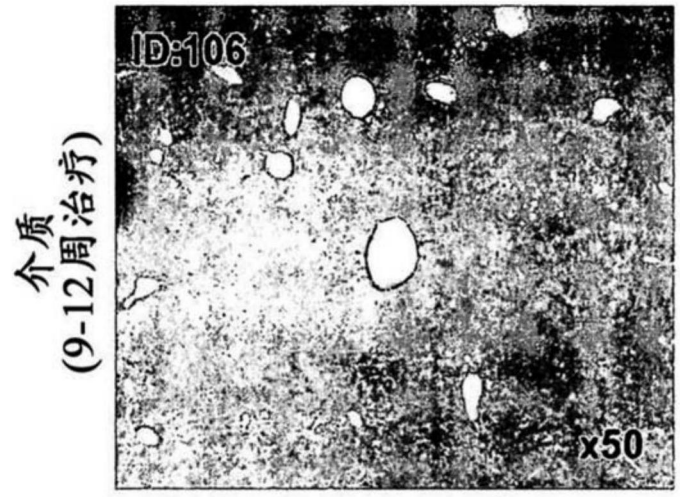

介质
(9-12周治疗)
ID:106
x50

图55A

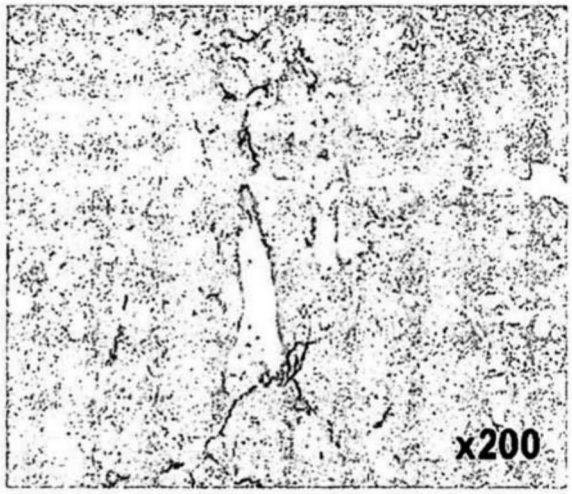


图55B

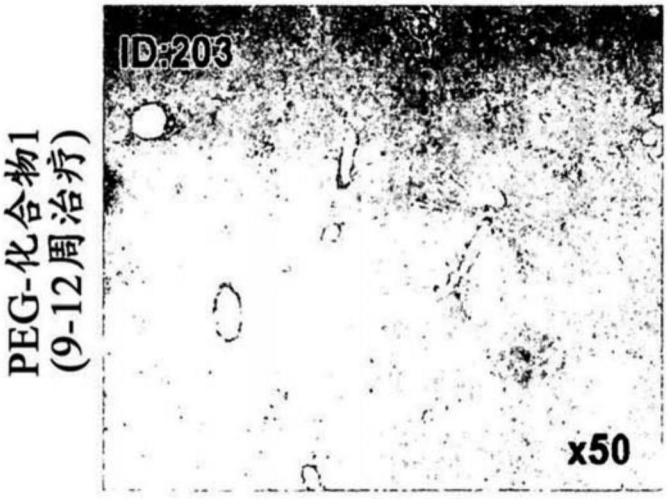


图55C

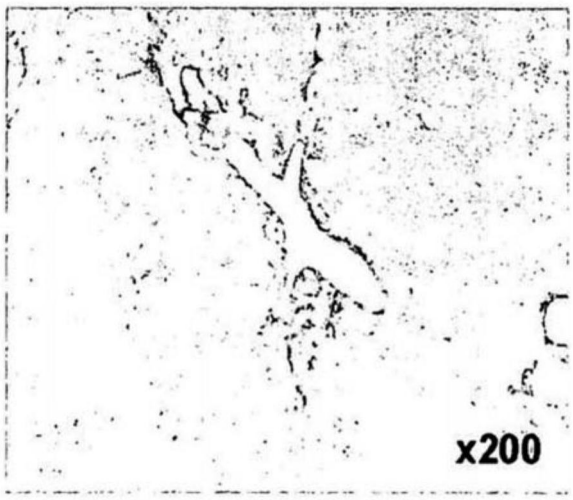


图55D

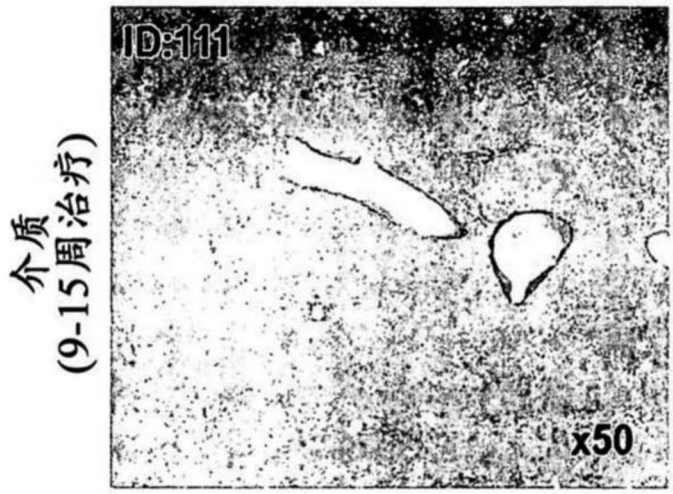


图55E

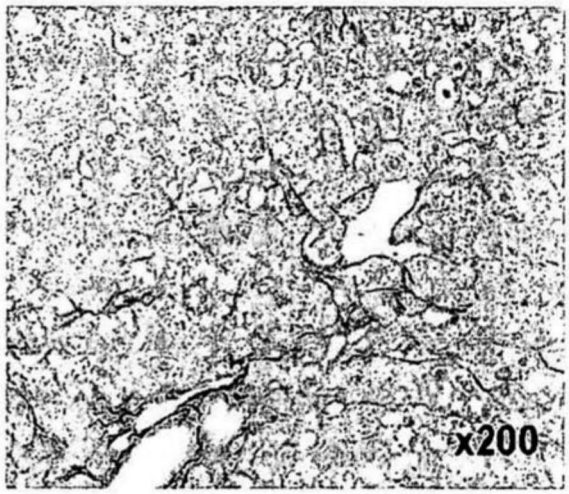


图55F



图55G

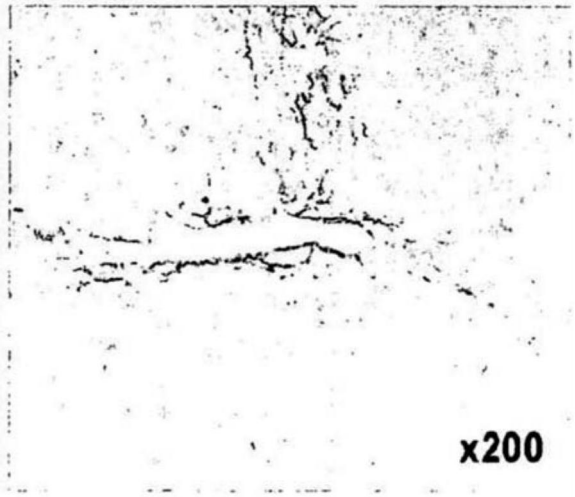


图55H

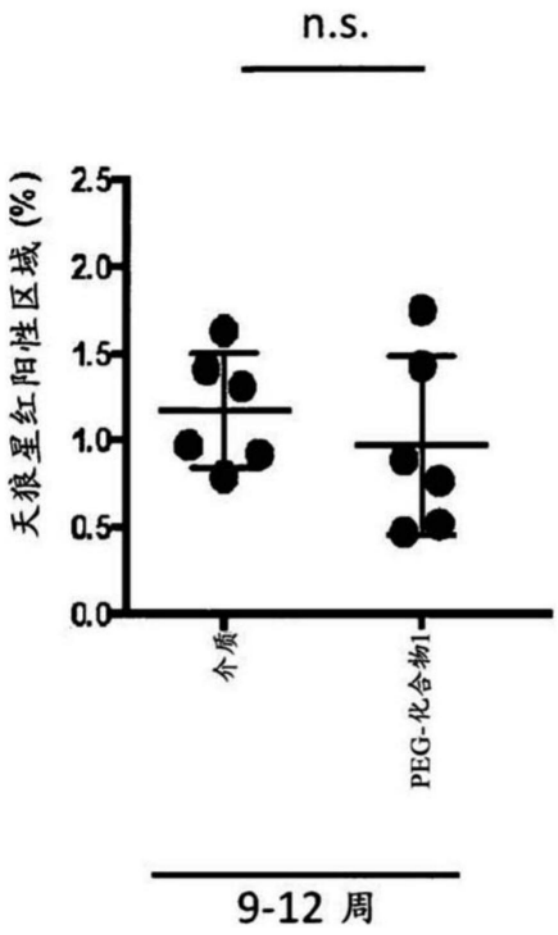


图56A

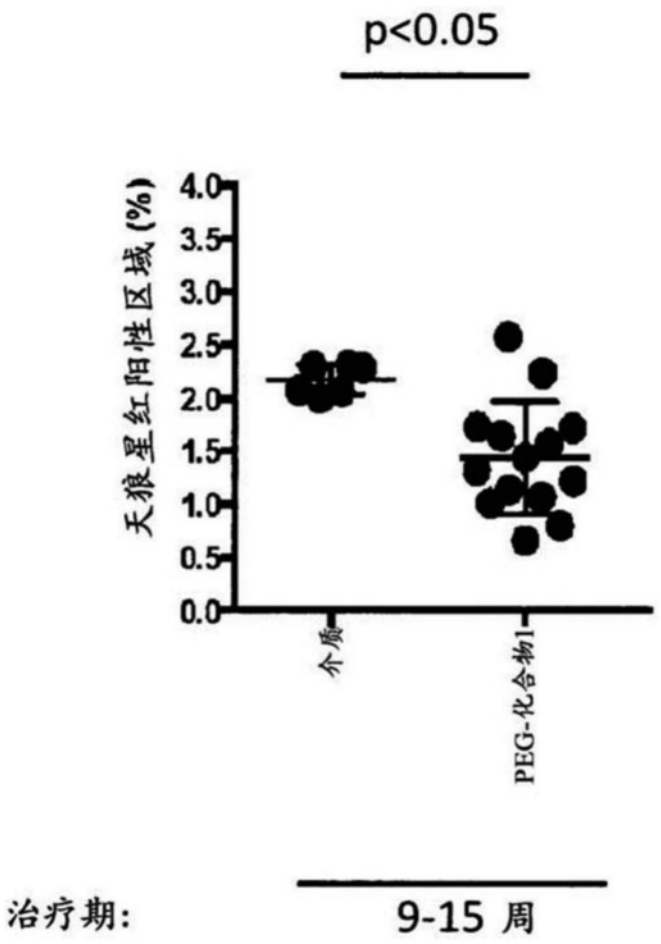

p<0.05
天狼星红阳性区域(%)
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
介质
PEG-化合物1
治疗期:
9-15 周

图56B

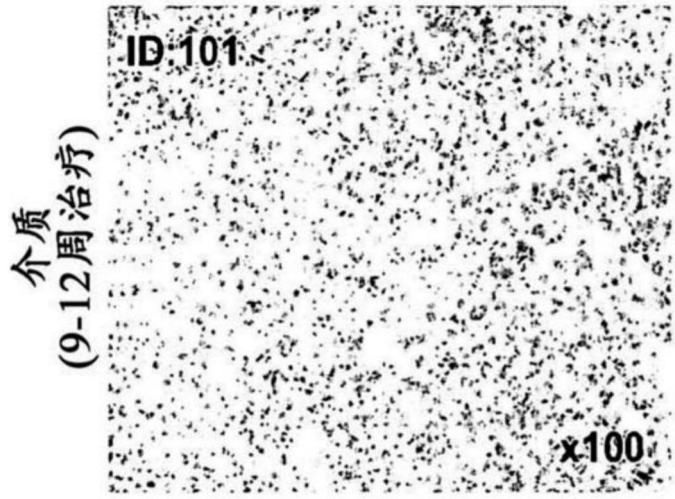

介质
(9-12周治疗)
ID:101
x100

图57A

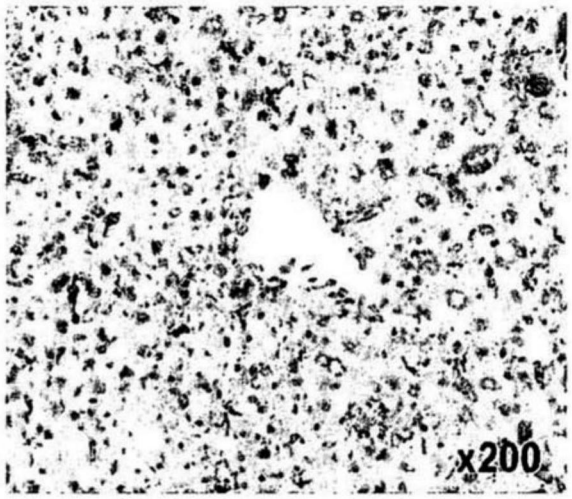


图57B

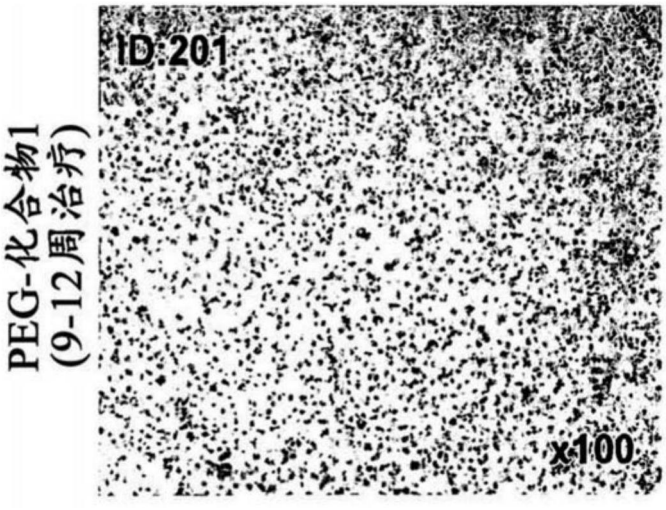


图57C

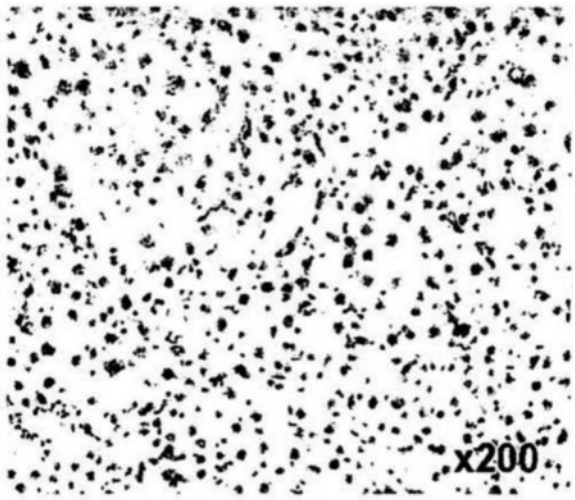


图57D

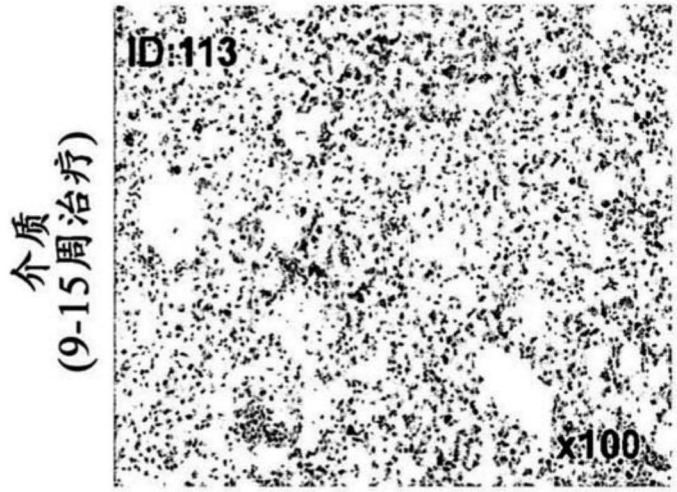


图57E

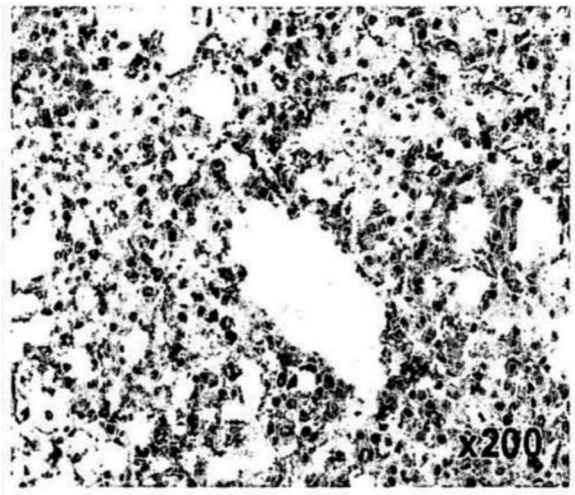


图57F

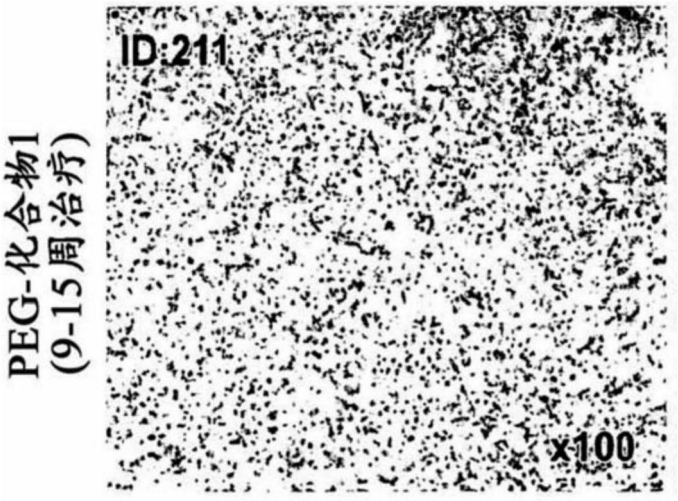


图57G

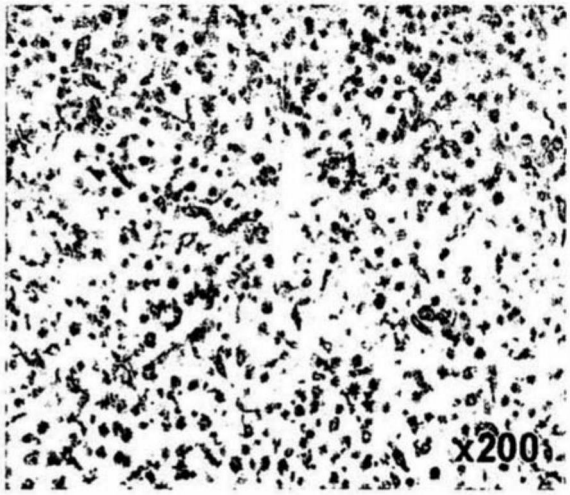


图57H

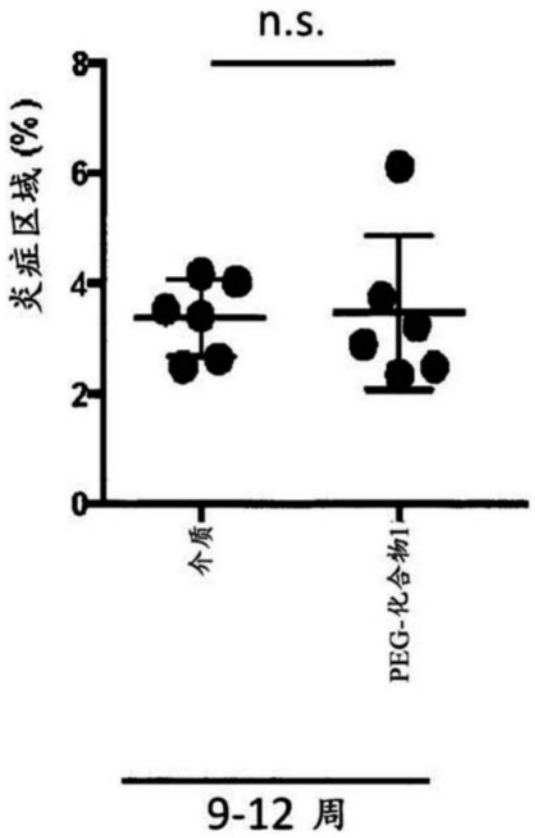


图58A

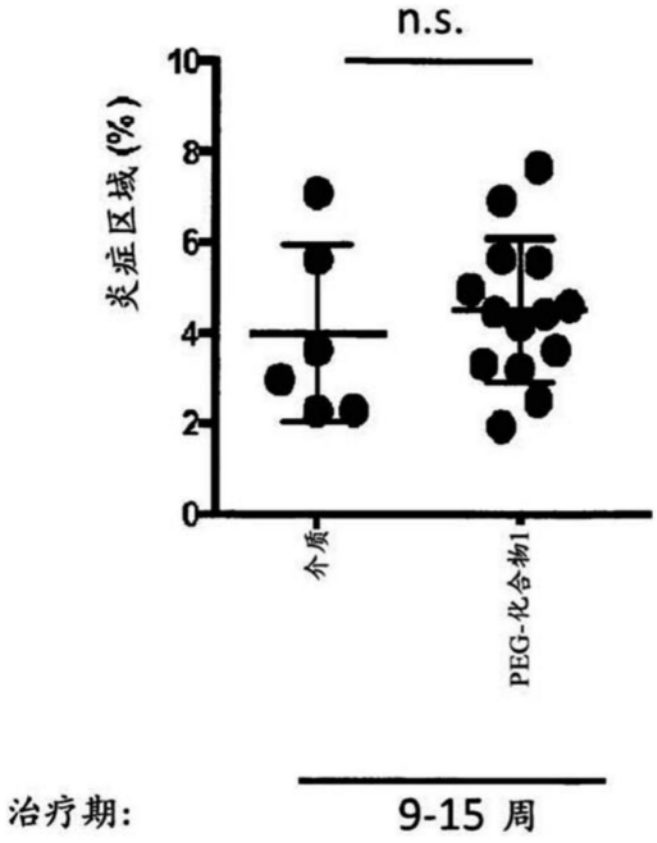


图58B

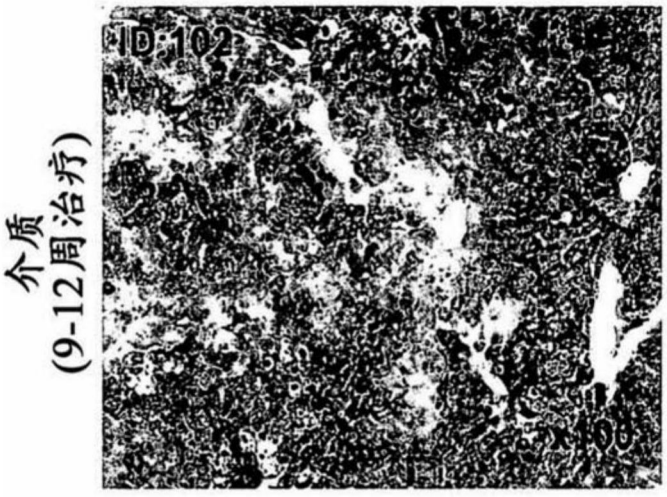


图59A

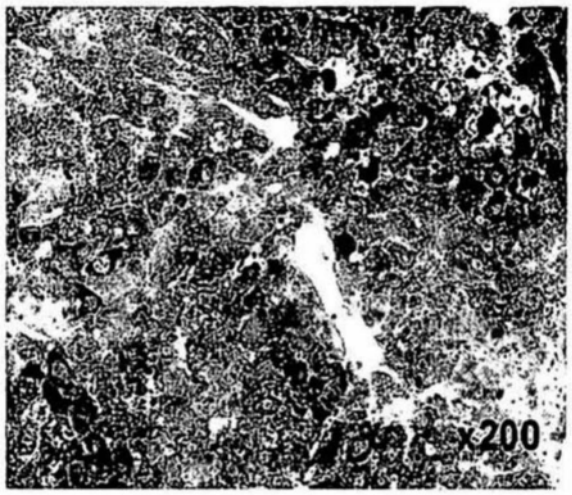


图59B

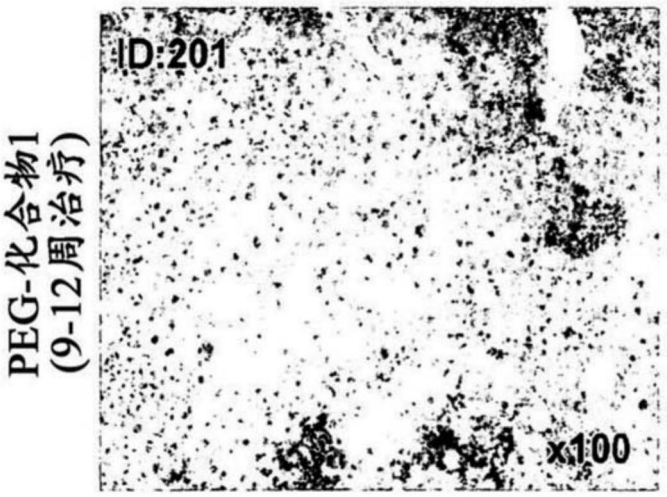


图59C

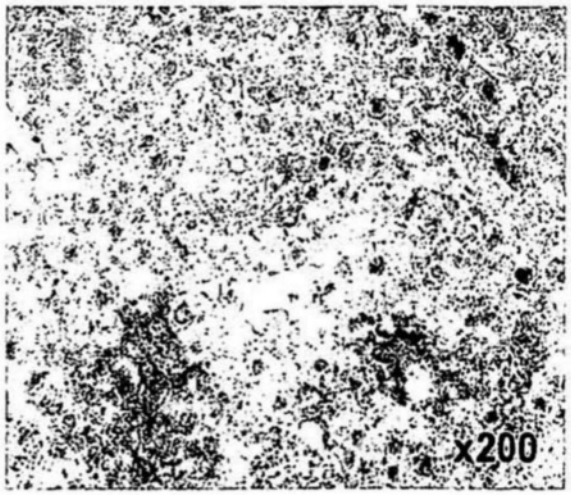


图59D

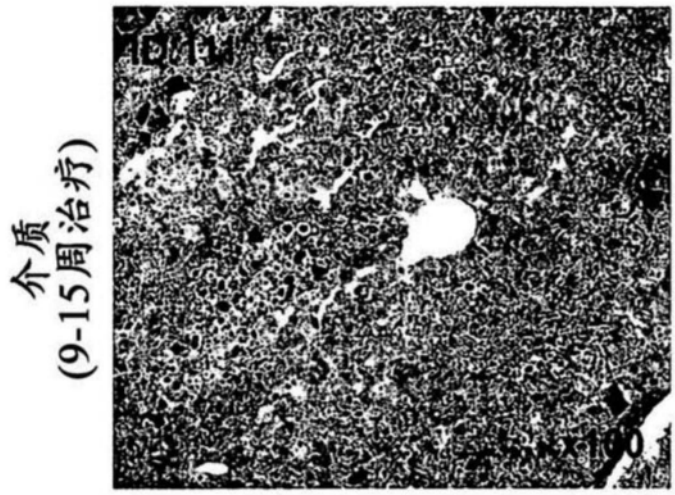


图59E

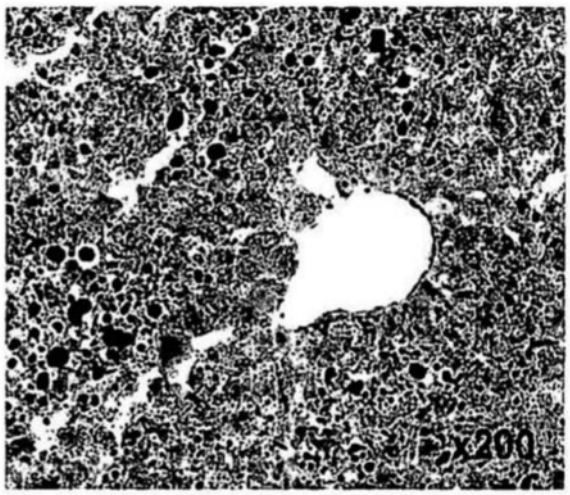


图59F

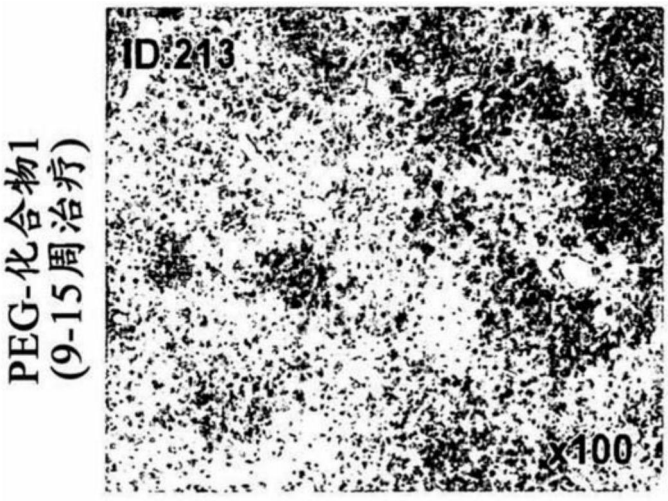


图59G

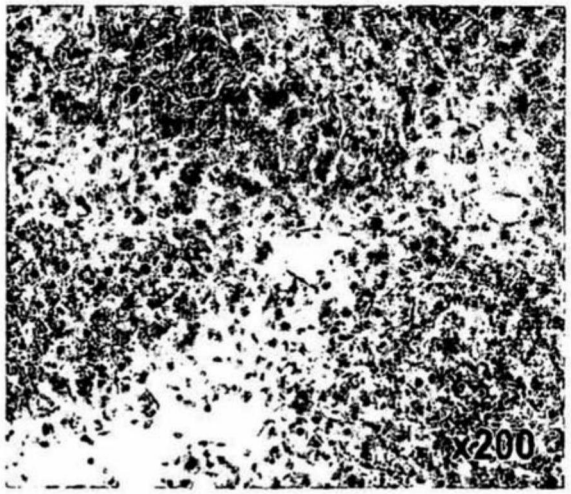


图59H

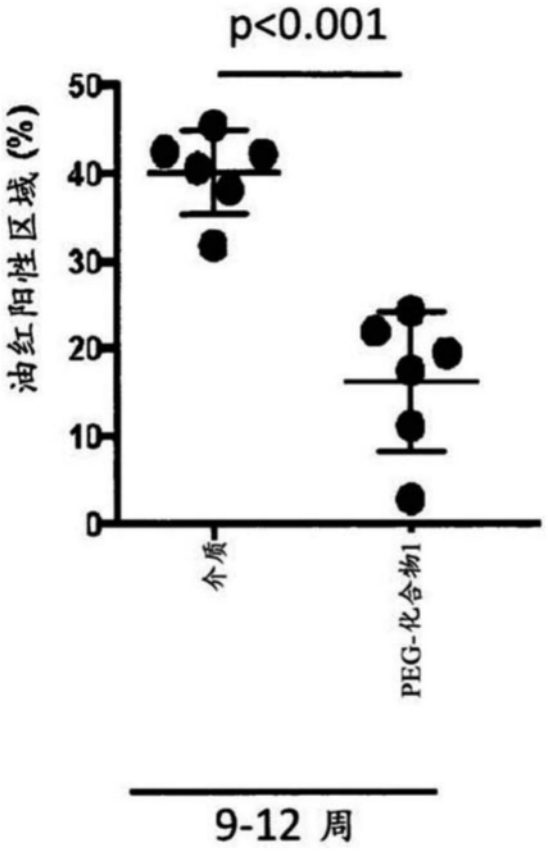


图60A

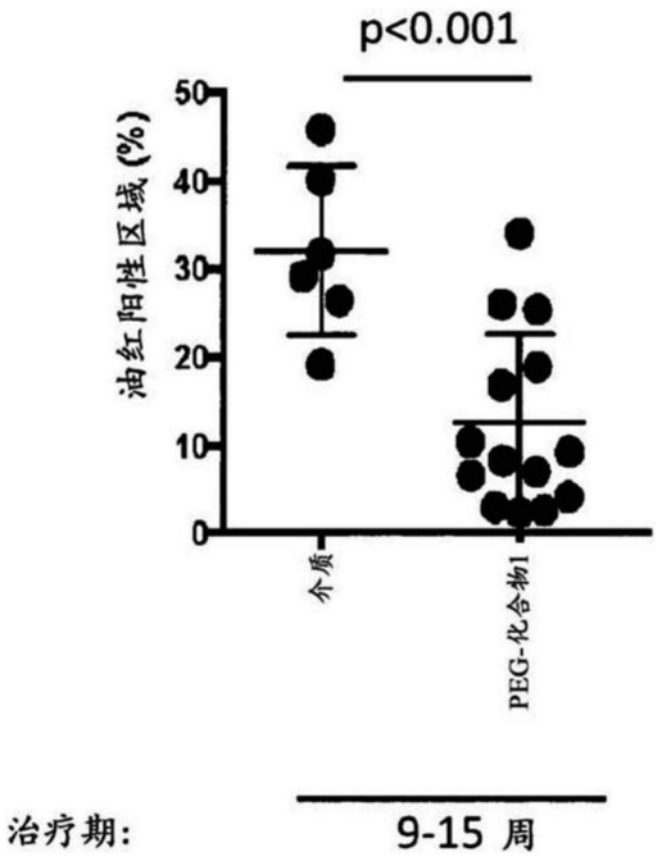


图60B

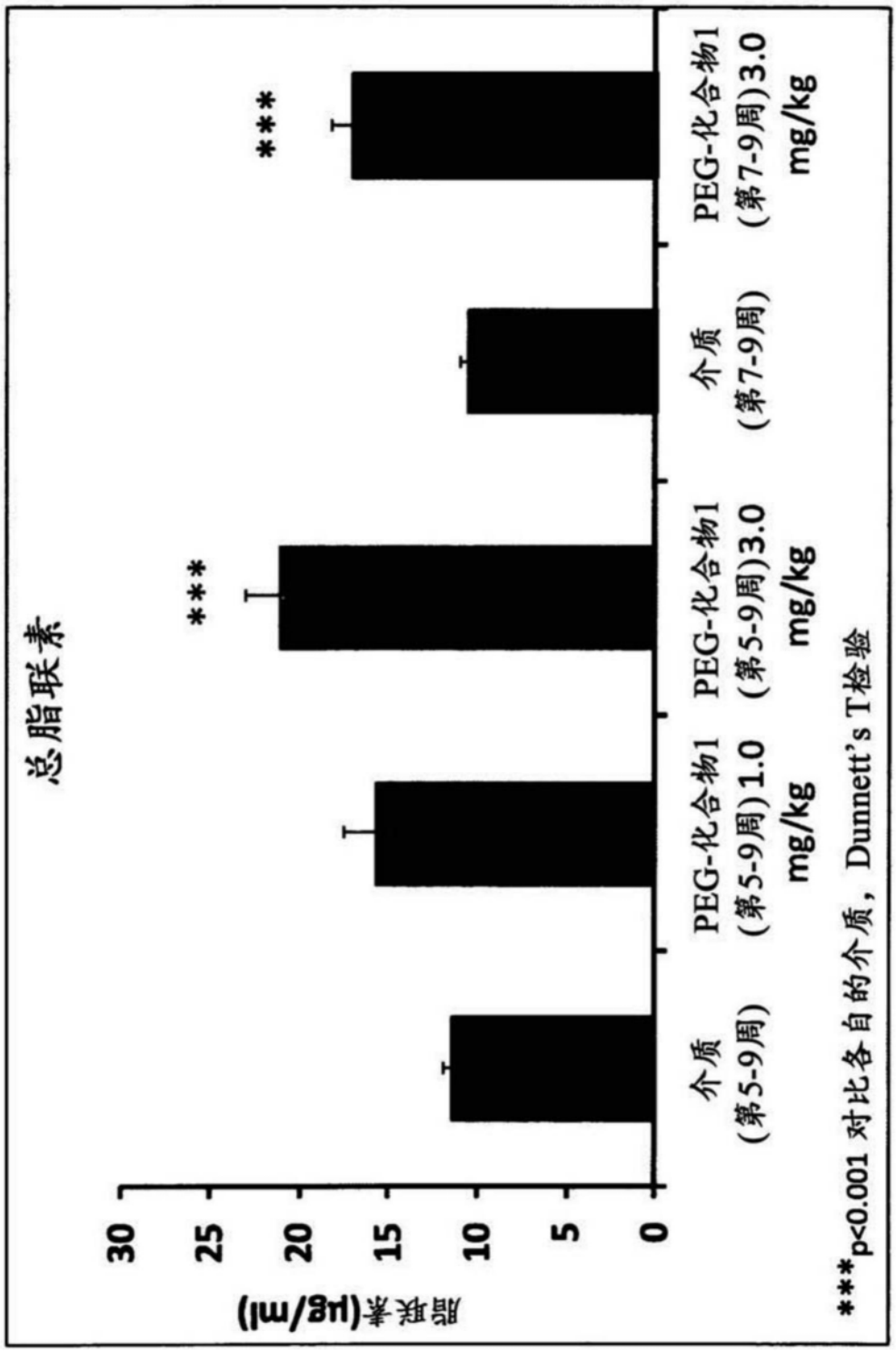

总脂联素
脂联素(μg/ml)
30
25
20
15
10
5
0
***
***
介质
(第5-9周)
PEG-化合物1
(第5-9周)1.0
mg/kg
PEG-化合物1
(第5-9周)3.0
mg/kg
介质
(第7-9周)
PEG-化合物1
(第7-9周)3.0
mg/kg
***p<0.001 对比各自的介质，Dunnett's T检验

图61

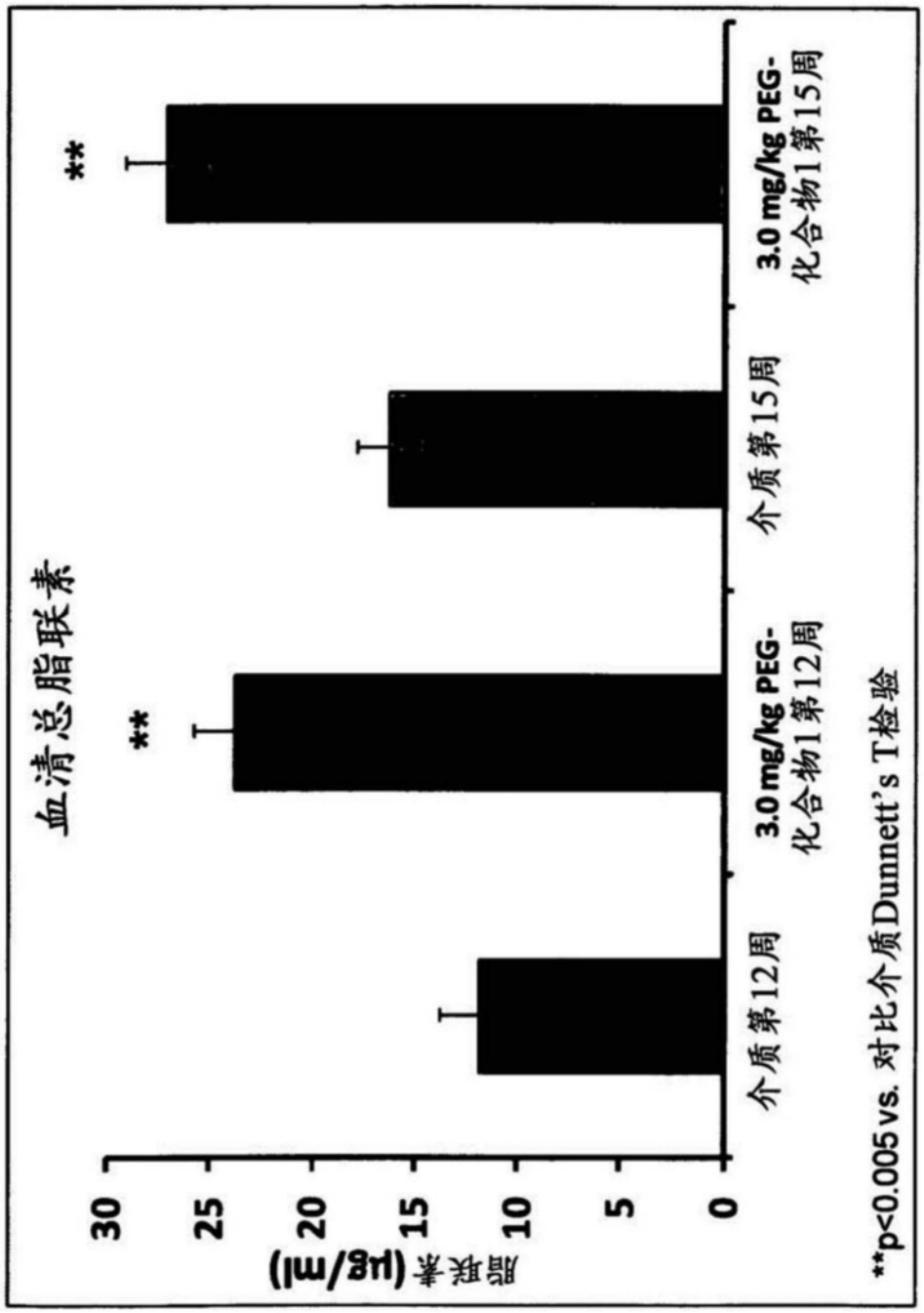

血清总脂联素
**
**
脂联素 (μg/ml)
30
25
20
15
10
5
0
介质第12周
3.0 mg/kg PEG-化合物1第12周
介质第15周
3.0 mg/kg PEG-化合物1第15周
**p<0.005 vs. 对比介质Dunnett's T检验

图62

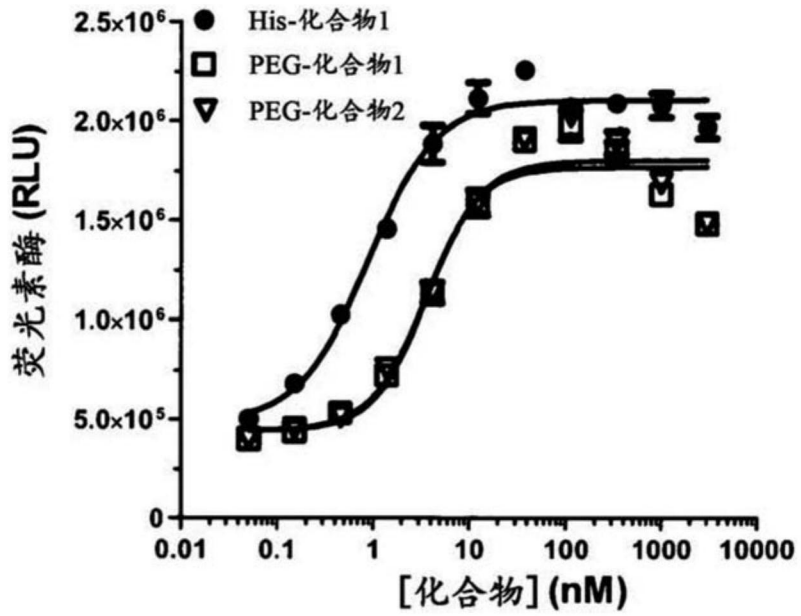

His-化合物1
PEG-化合物1
PEG-化合物2
荧光素酶 (RLU)
2.5x10⁶
2.0x10⁶
1.5x10⁶
1.0x10⁶
5.0x10⁵
0
0.01
0.1
1
10
100
1000
10000
[化合物] (nM)

图63

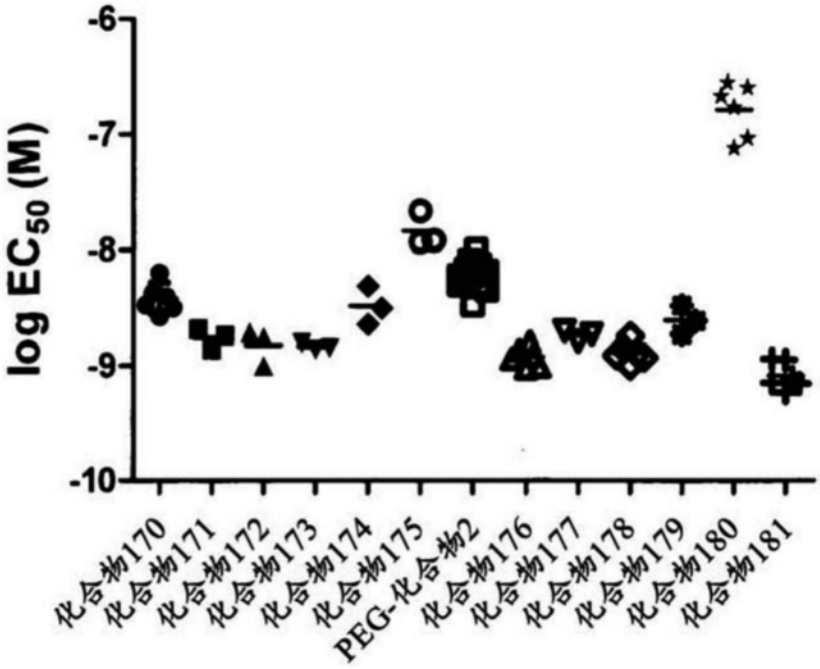

log EC50 (M)
-6
-7
-8
-9
-10
化合物170
化合物171
化合物172
化合物173
化合物174
化合物175
PEG-化合物2
化合物176
化合物177
化合物178
化合物179
化合物180
化合物181

图64

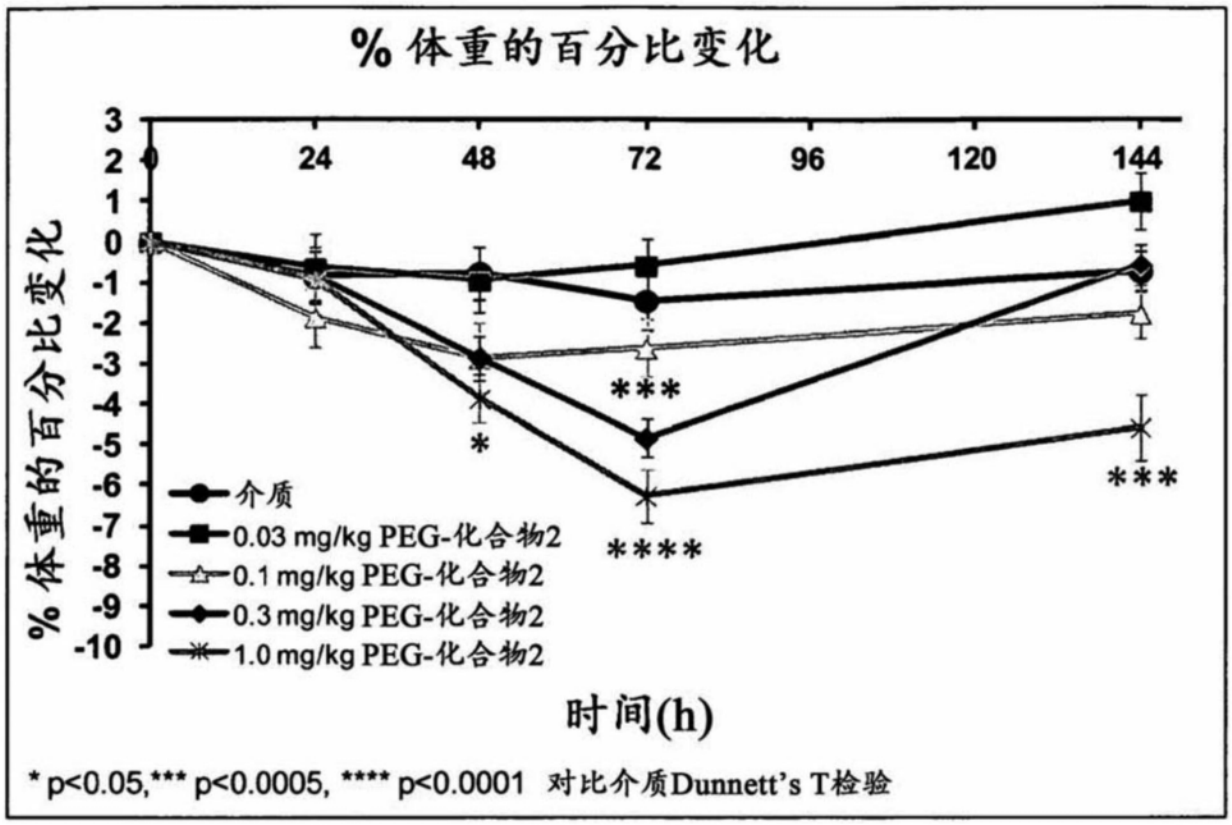

% 体重的百分比变化
% 体重的百分比变化
3
2
1
0
-1
-2
-3
-4
-5
-6
-7
-8
-9
-10
24
48
72
96
120
144
介质
0.03 mg/kg PEG-化合物2
0.1 mg/kg PEG-化合物2
0.3 mg/kg PEG-化合物2
1.0 mg/kg PEG-化合物2
*
***
****
***
时间(h)
* p<0.05,*** p<0.0005, **** p<0.0001 对比介质Dunnett's T检验

图65

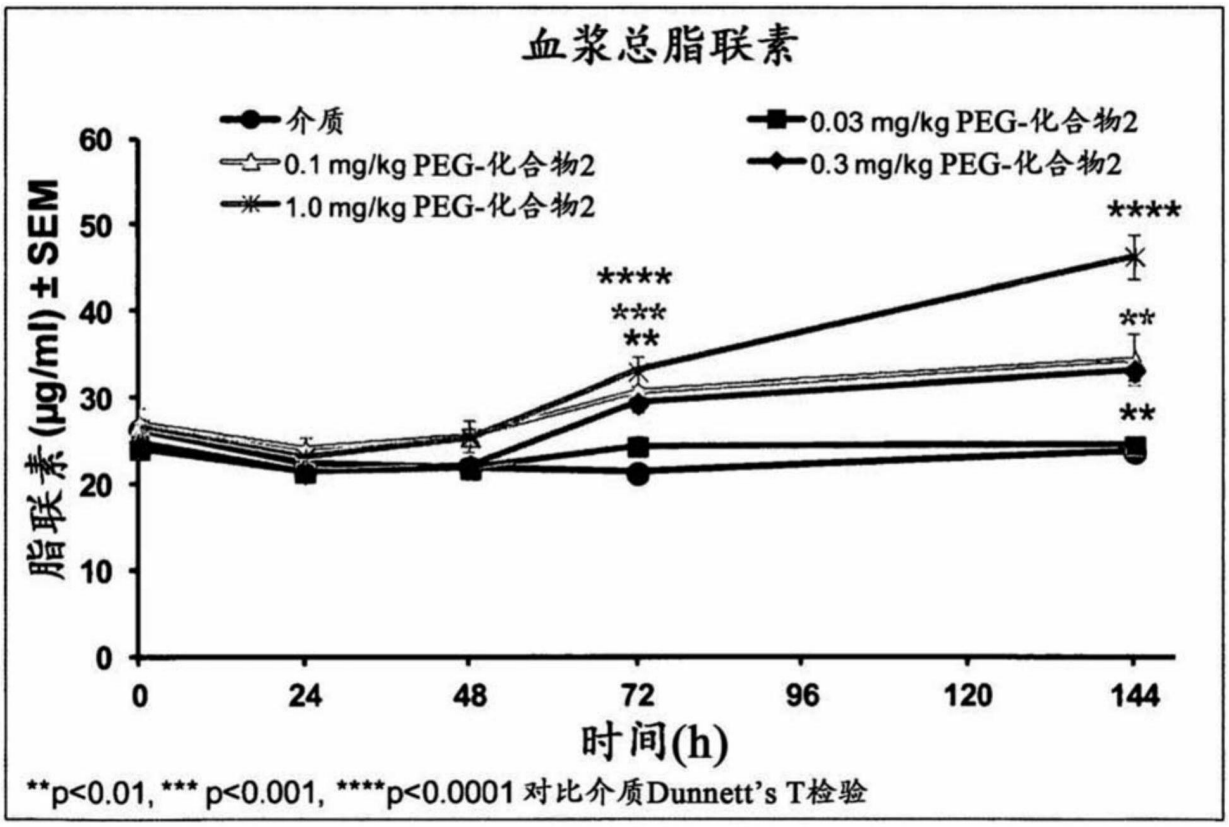

血浆总脂联素
介质
0.03 mg/kg PEG-化合物2
0.1 mg/kg PEG-化合物2
0.3 mg/kg PEG-化合物2
1.0 mg/kg PEG-化合物2
脂联素 (μg/ml) ± SEM
60
50
40
30
20
10
0
0
24
48
72
96
120
144
时间(h)
****
***
**
****
**
**
**p<0.01, *** p<0.001, ****p<0.0001 对比介质Dunnett's T检验

图66A

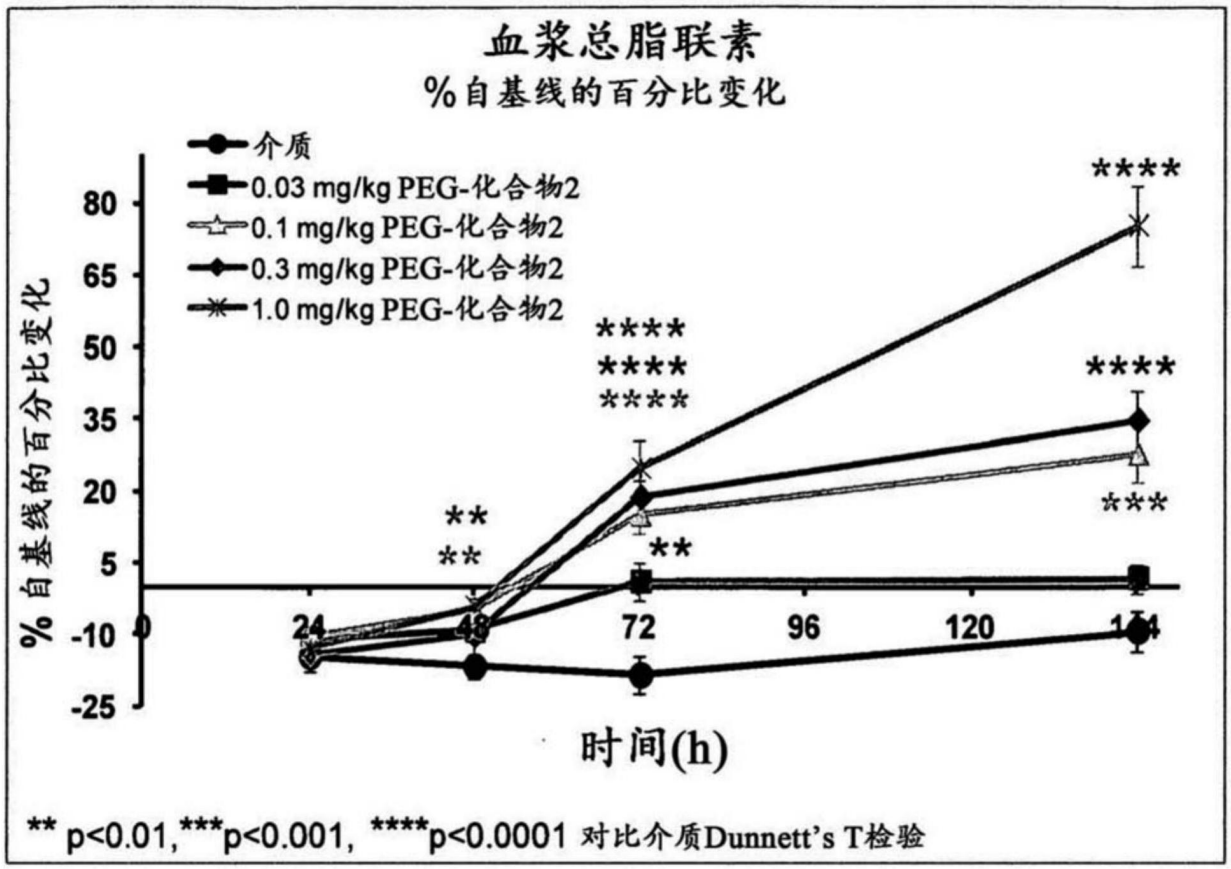

血浆总脂联素
%自基线的百分比变化
介质
0.03 mg/kg PEG-化合物2
0.1 mg/kg PEG-化合物2
0.3 mg/kg PEG-化合物2
1.0 mg/kg PEG-化合物2
% 自基线的百分比变化
80
65
50
35
20
5
-10
-25
0
24
48
72
96
120
144
时间(h)
** p<0.01,***p<0.001, ****p<0.0001 对比介质Dunnett's T检验

图66B

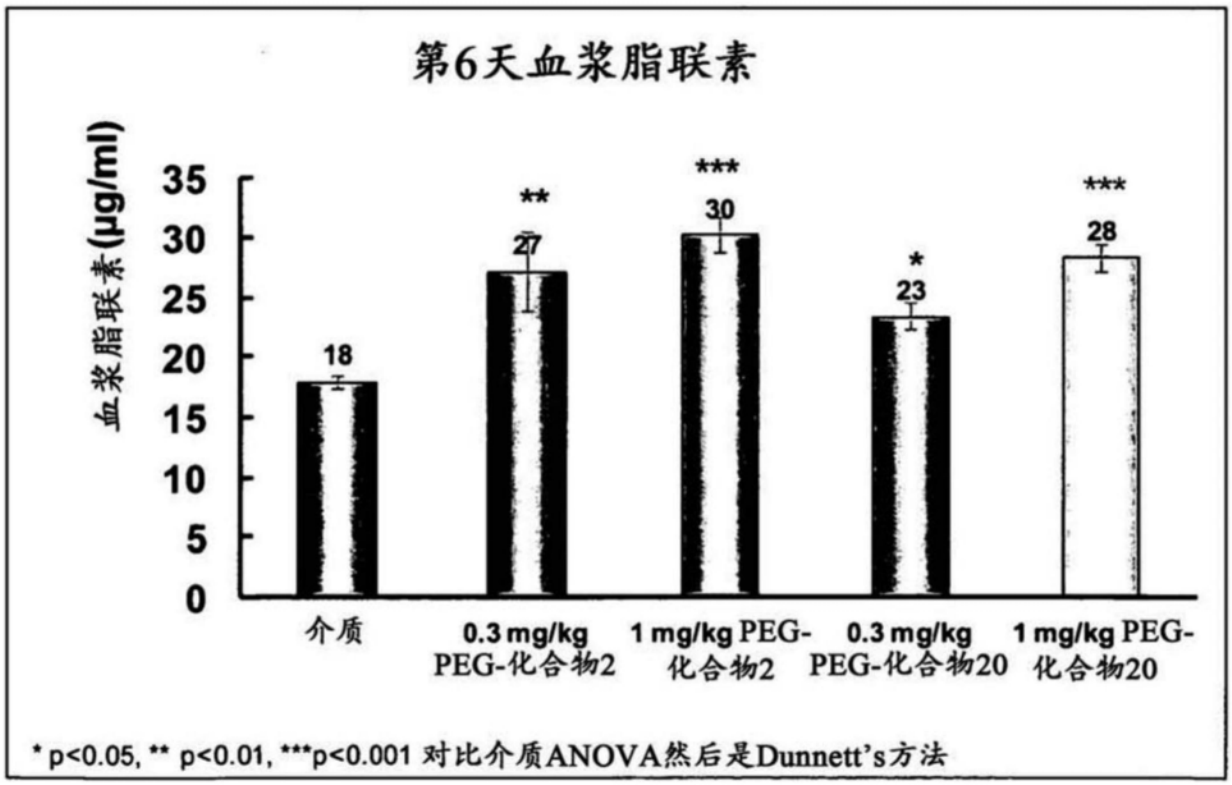

第6天血浆脂联素
血浆脂联素(μg/ml)
35
30
25
20
15
10
5
0
18
27
30
23
28
**
***
*
***
介质
0.3 mg/kg PEG-化合物2
1 mg/kg PEG-化合物2
0.3 mg/kg PEG-化合物20
1 mg/kg PEG-化合物20
* p<0.05, ** p<0.01, ***p<0.001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法

图67A

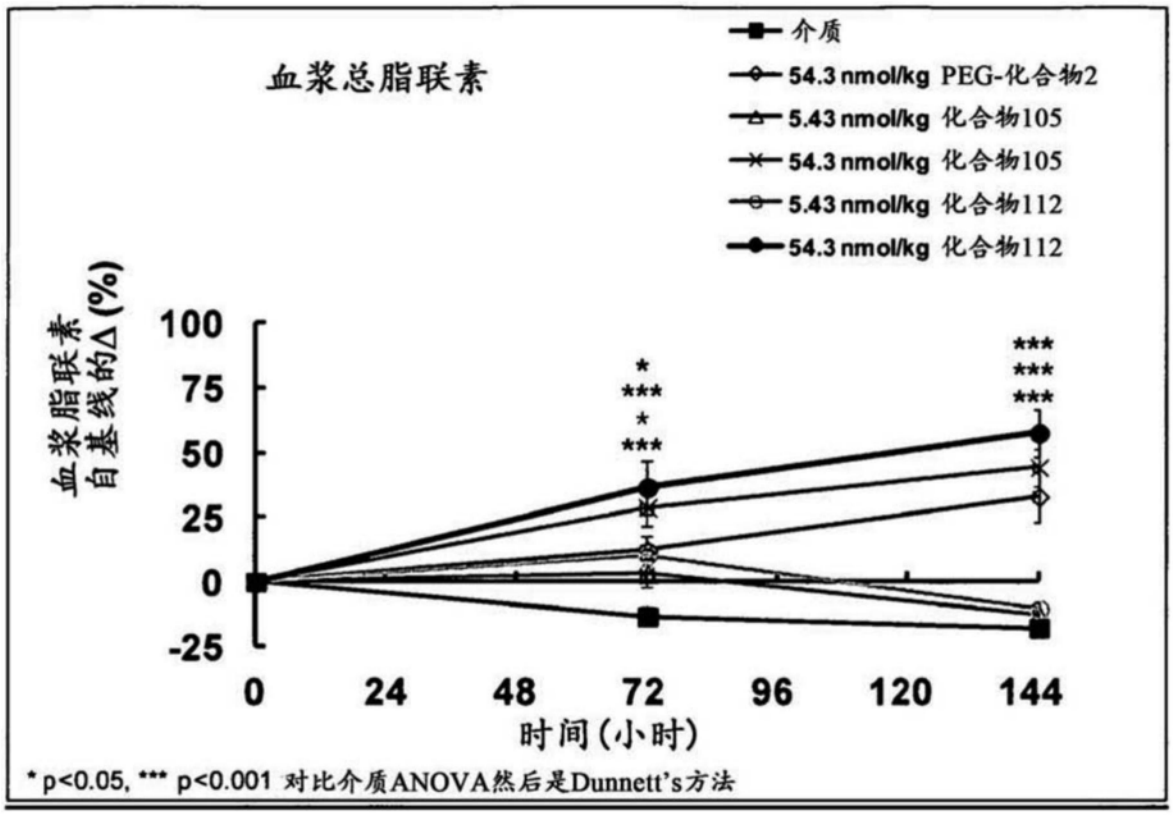

血浆总脂联素
介质
54.3 nmol/kg PEG-化合物2
5.43 nmol/kg 化合物105
54.3 nmol/kg 化合物105
5.43 nmol/kg 化合物112
54.3 nmol/kg 化合物112
血浆脂联素自基线的Δ(%)
100
75
50
25
0
-25
0
24
48
72
96
120
144
时间(小时)
* p<0.05, *** p<0.001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法

图67B

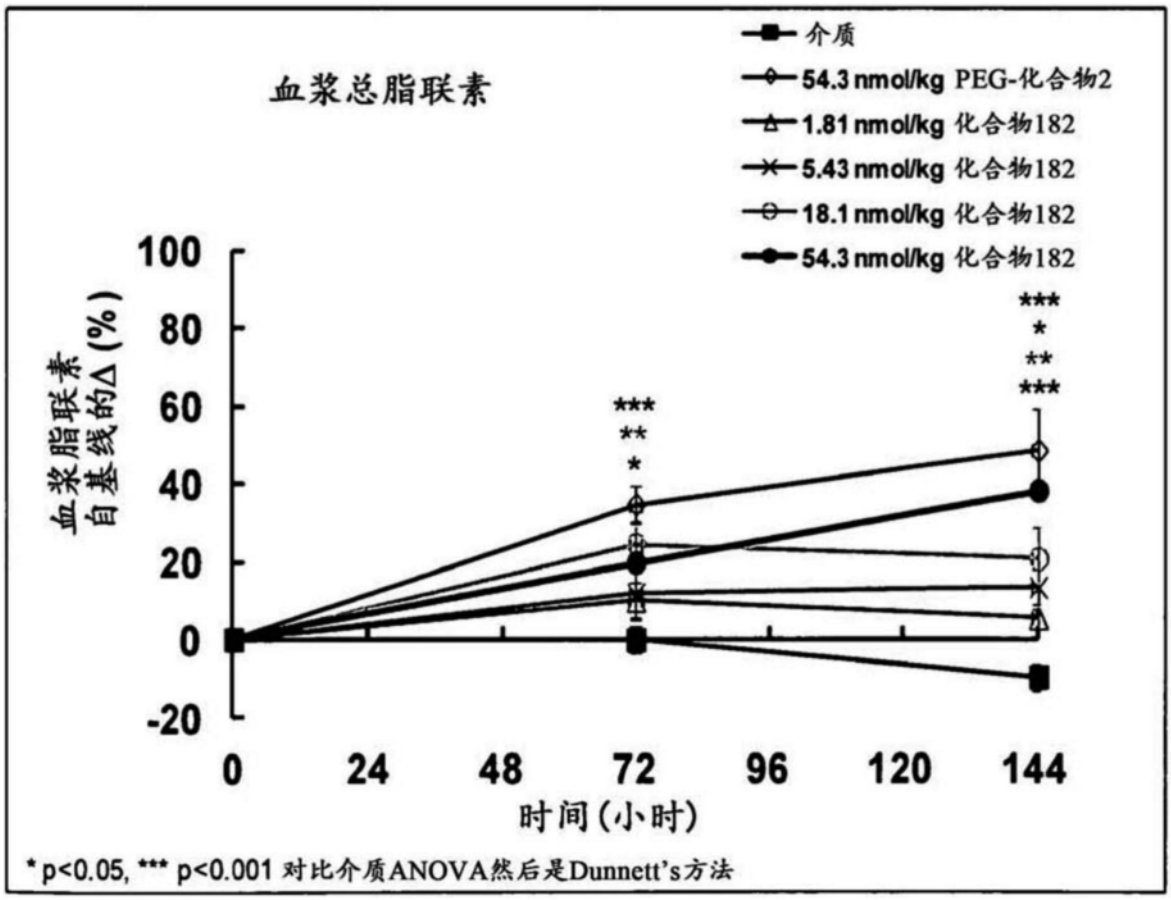

血浆总脂联素
介质
54.3 nmol/kg PEG-化合物2
1.81 nmol/kg 化合物182
5.43 nmol/kg 化合物182
18.1 nmol/kg 化合物182
54.3 nmol/kg 化合物182
血浆脂联素
自基线的Δ (%)
100
80
60
40
20
0
-20
0
24
48
72
96
120
144
时间(小时)
***
**
*
***
*
**
***
* p<0.05, *** p<0.001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法

图67C

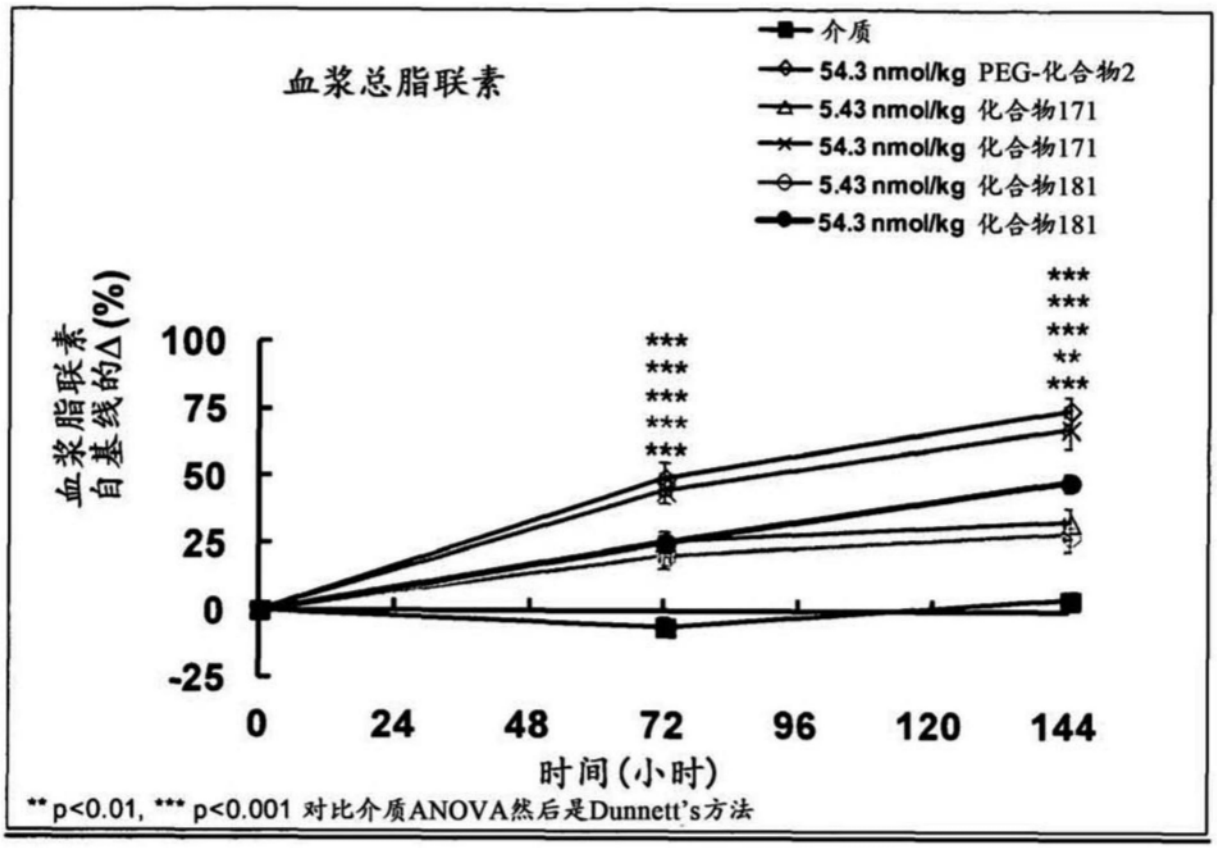

血浆总脂联素
介质
54.3 nmol/kg PEG-化合物2
5.43 nmol/kg 化合物171
54.3 nmol/kg 化合物171
5.43 nmol/kg 化合物181
54.3 nmol/kg 化合物181
血浆脂联素自基线的Δ(%)
100
75
50
25
0
-25
0
24
48
72
96
120
144
时间(小时)
** p<0.01, *** p<0.001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法

图67D

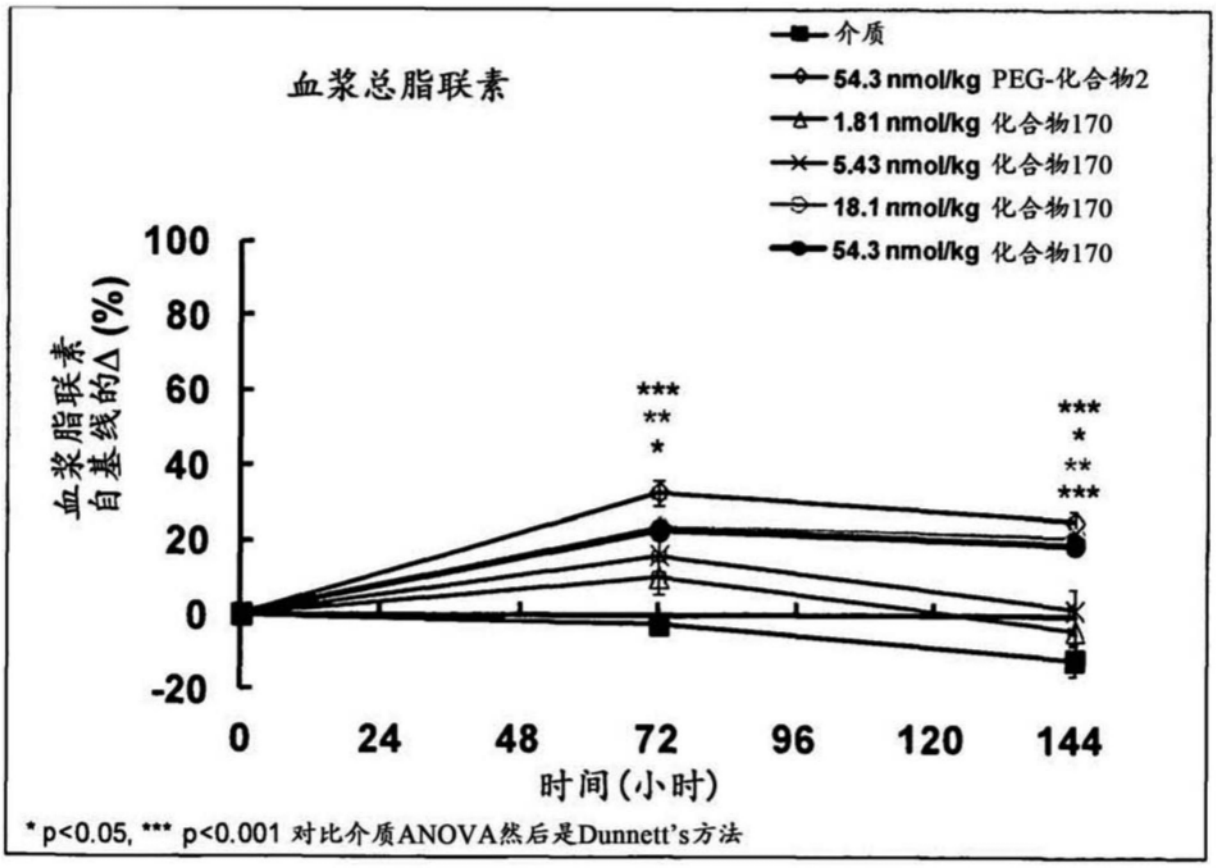

血浆总脂联素
介质
54.3 nmol/kg PEG-化合物2
1.81 nmol/kg 化合物170
5.43 nmol/kg 化合物170
18.1 nmol/kg 化合物170
54.3 nmol/kg 化合物170
血浆脂联素自基线的Δ (%)
100
80
60
40
20
0
-20
0
24
48
72
96
120
144
时间(小时)
* p<0.05, *** p<0.001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法

图67E

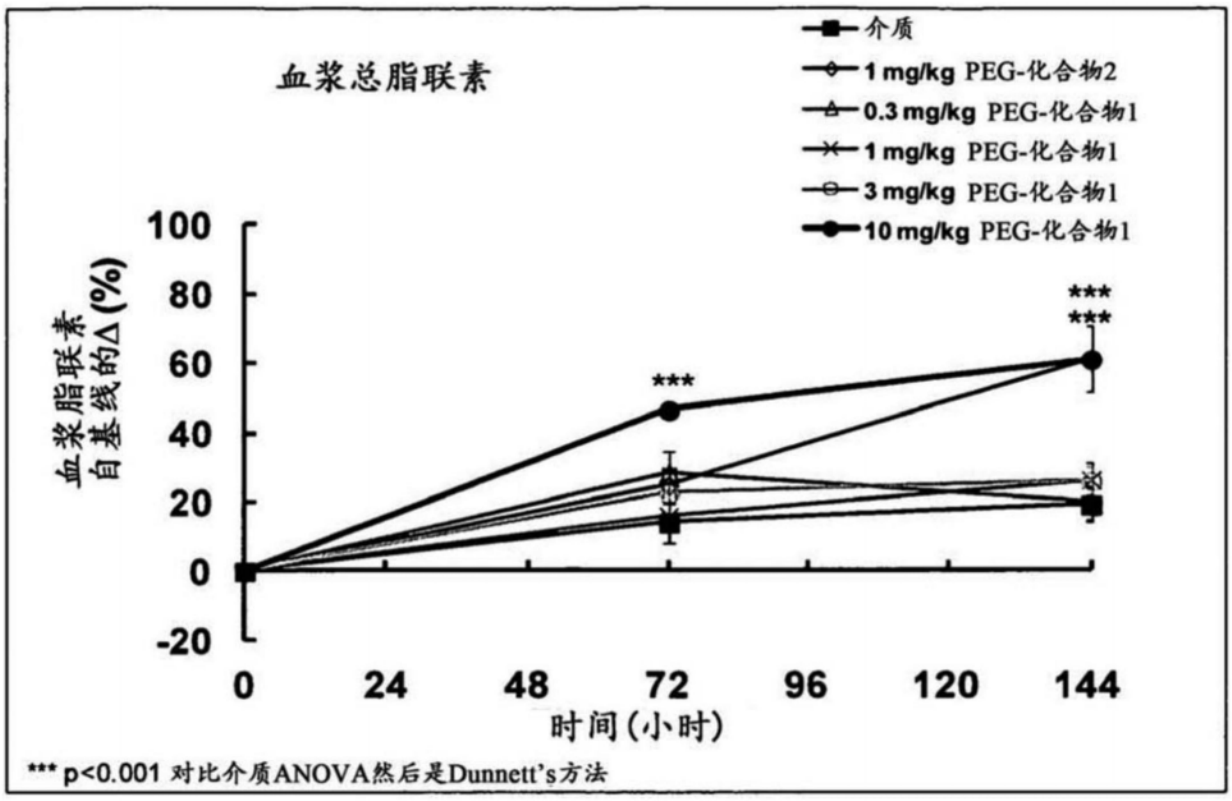

血浆总脂联素
介质
1 mg/kg PEG-化合物2
0.3 mg/kg PEG-化合物1
1 mg/kg PEG-化合物1
3 mg/kg PEG-化合物1
10 mg/kg PEG-化合物1
血浆脂联素自基线的Δ(%)
100
80
60
40
20
0
-20
0
24
48
72
96
120
144
时间(小时)
***
***
***
*** p<0.001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法

图67F

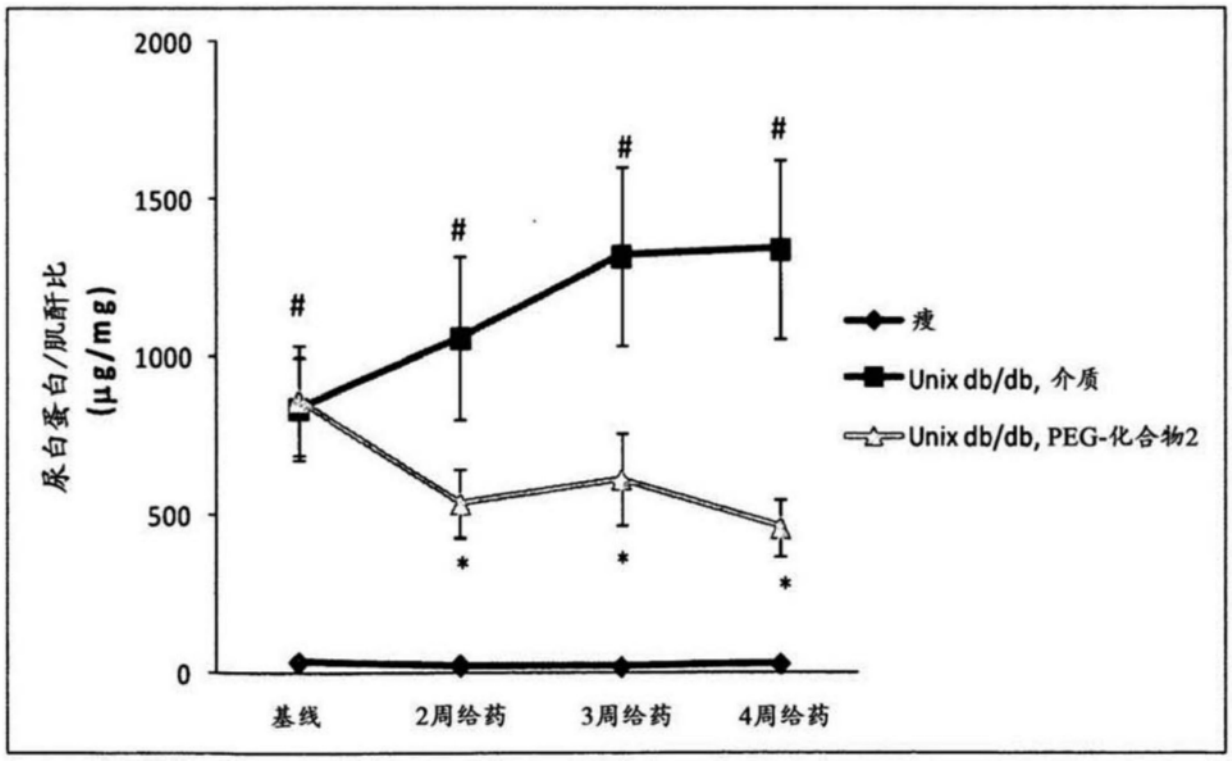

尿白蛋白/肌酐比(μg/mg)
2000
1500
1000
500
0
#
#
#
#
*
*
*
瘦
Unix db/db, 介质
Unix db/db, PEG-化合物2
基线
2周给药
3周给药
4周给药

图68

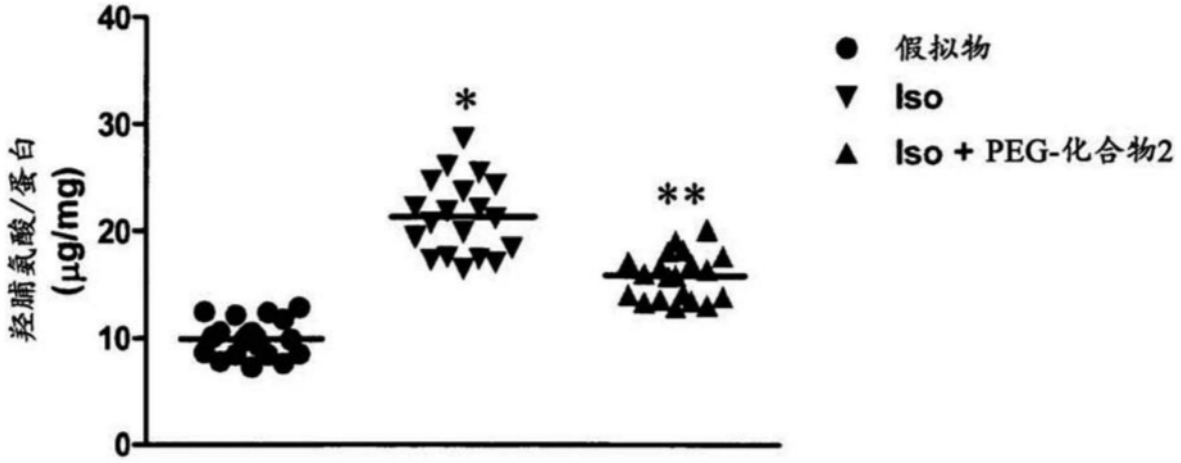

羟脯氨酸/蛋白 (μg/mg)
40
30
20
10
0
*
**
假拟物
Iso
Iso + PEG-化合物2

图69

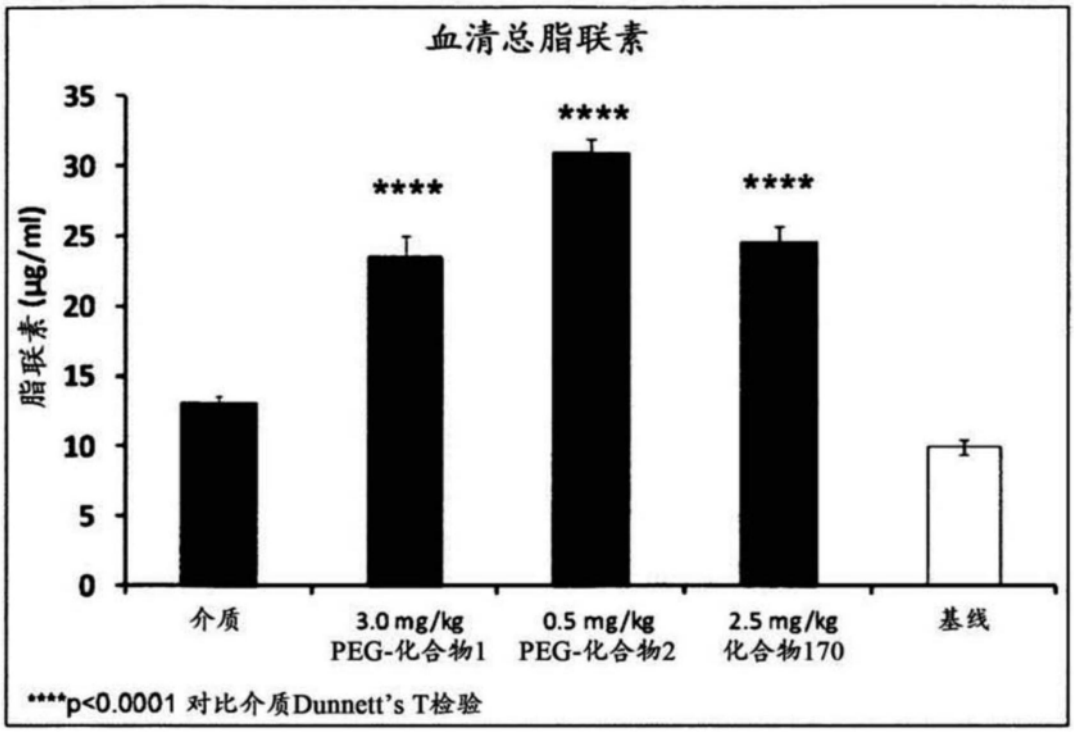

血清总脂联素
脂联素 (μg/ml)
35
30
25
20
15
10
5
0
****
****
****
介质
3.0 mg/kg PEG-化合物1
0.5 mg/kg PEG-化合物2
2.5 mg/kg 化合物170
基线
****p<0.0001 对比介质Dunnett's T检验

图70A

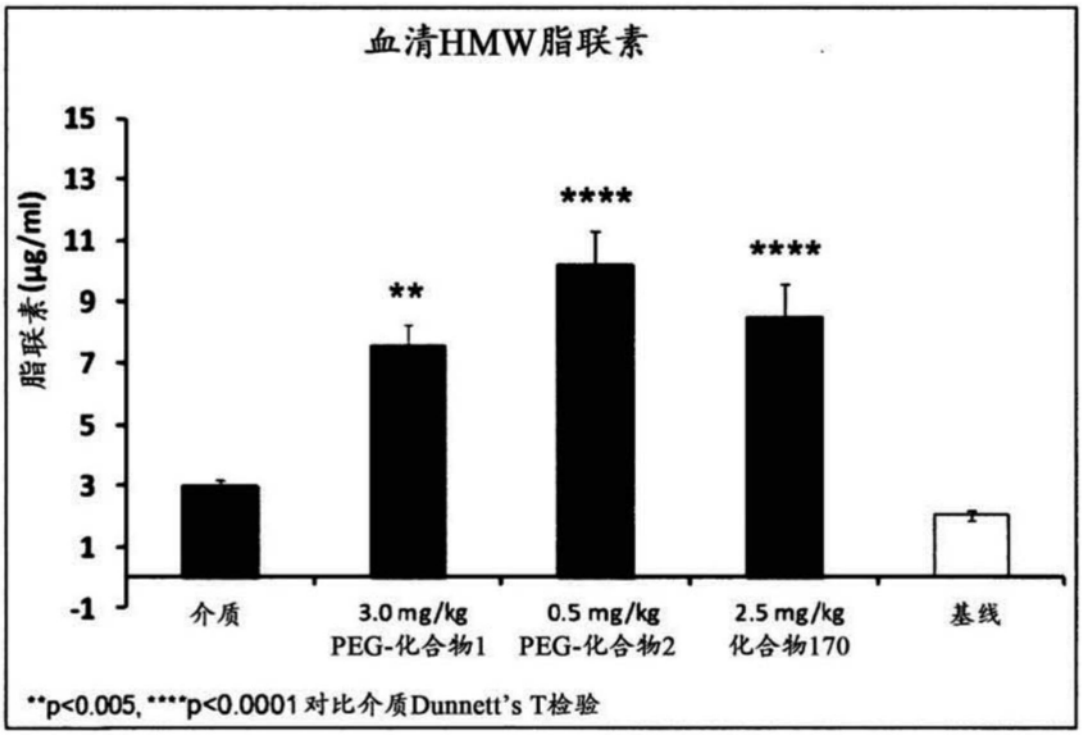

血清HMW脂联素
脂联素(μg/ml)
15
13
11
9
7
5
3
1
-1
**
****
****
介质
3.0 mg/kg PEG-化合物1
0.5 mg/kg PEG-化合物2
2.5 mg/kg 化合物170
基线
**p<0.005, ****p<0.0001 对比介质Dunnett's T检验

图70B

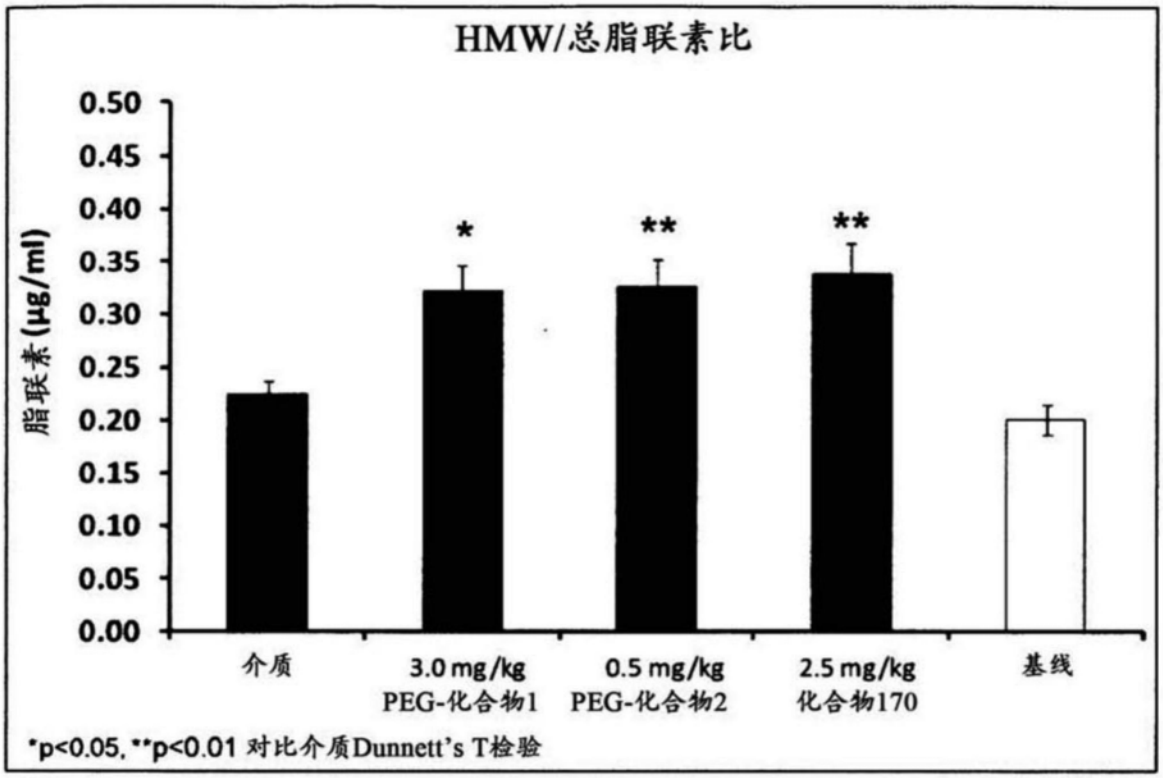

HMW/总脂联素比
脂联素(μg/ml)
0.50
0.45
0.40
0.35
0.30
0.25
0.20
0.15
0.10
0.05
0.00
*
**
**
介质
3.0 mg/kg PEG-化合物1
0.5 mg/kg PEG-化合物2
2.5 mg/kg 化合物170
基线
*p<0.05, **p<0.01 对比介质Dunnett's T检验

图70C

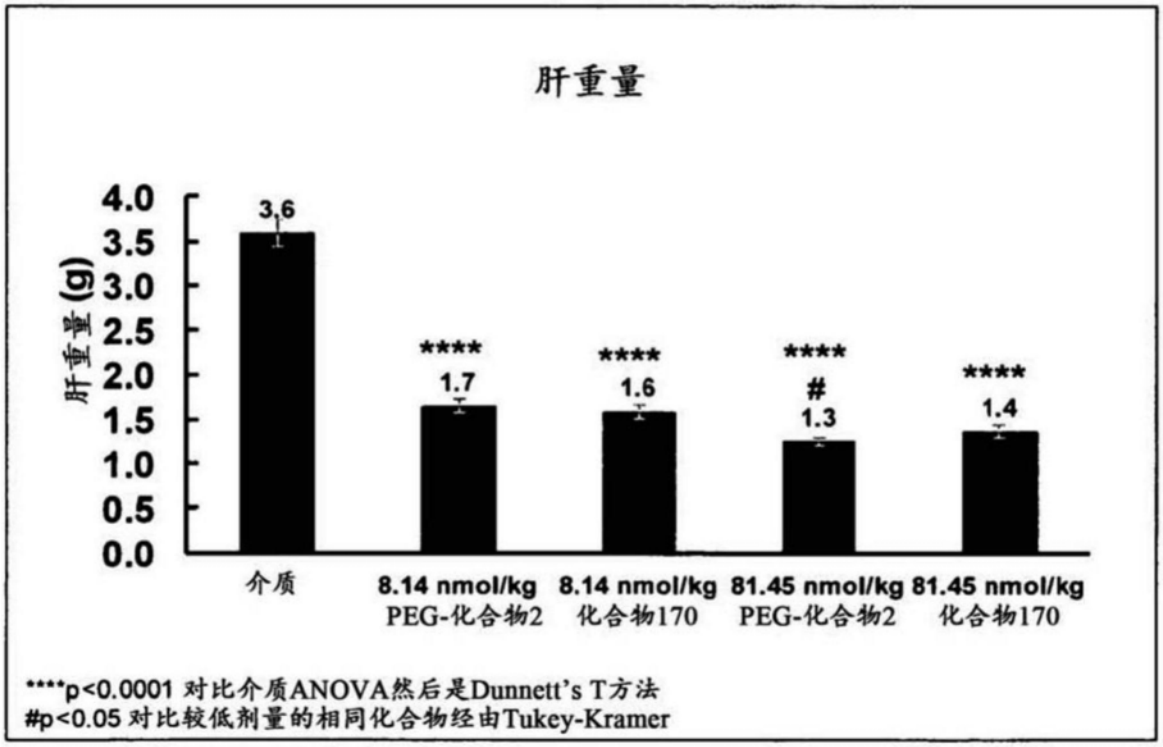

肝重量
肝重量(g)
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
3.6
****
1.7
****
1.6
****
#
1.3
****
1.4
介质
8.14 nmol/kg PEG-化合物2
8.14 nmol/kg 化合物170
81.45 nmol/kg PEG-化合物2
81.45 nmol/kg 化合物170
****p<0.0001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's T方法
#p<0.05 对比较低剂量的相同化合物经由Tukey-Kramer

图71A

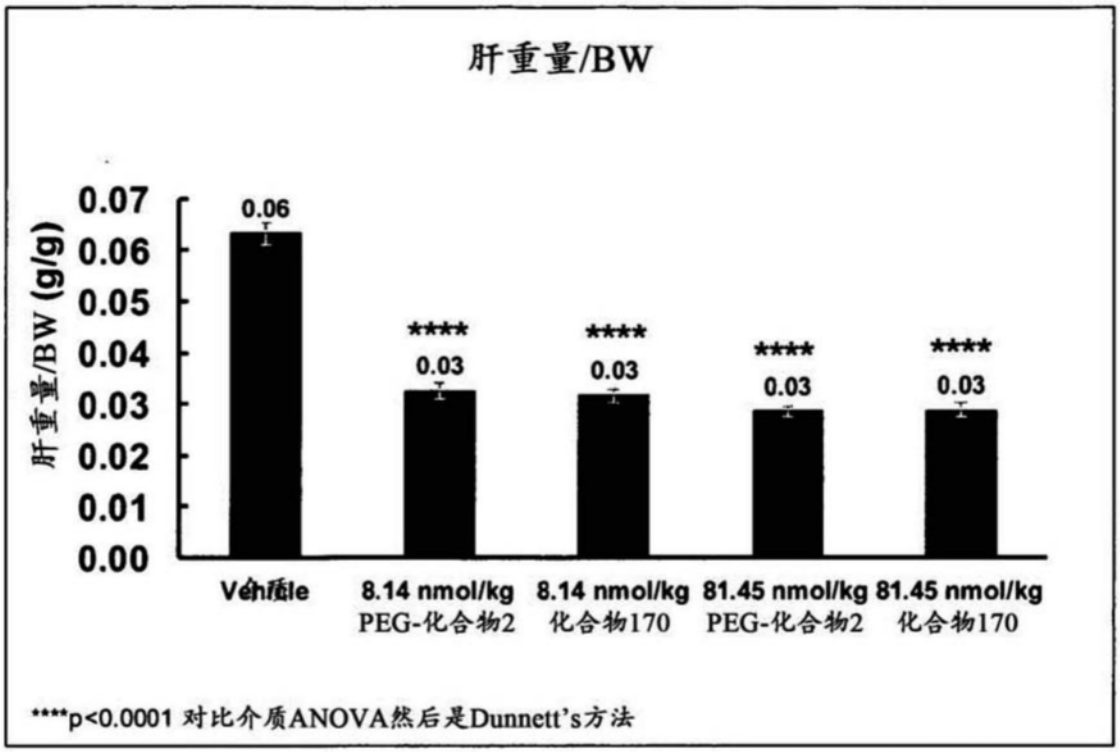

肝重量/BW
肝重量/BW (g/g)
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
0.06
****
0.03
****
0.03
****
0.03
****
0.03
Vehicle
8.14 nmol/kg PEG-化合物2
8.14 nmol/kg 化合物170
81.45 nmol/kg PEG-化合物2
81.45 nmol/kg 化合物170
****p<0.0001 对比介质ANOVA然后是Dunnett's方法

图71B

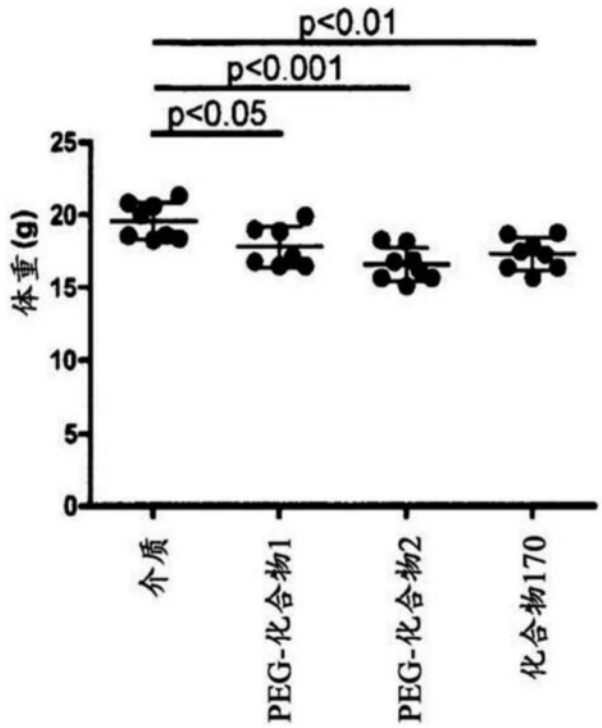

p<0.01
p<0.001
p<0.05
体重(g)
25
20
15
10
5
0
介质
PEG-化合物1
PEG-化合物2
化合物170

图72A

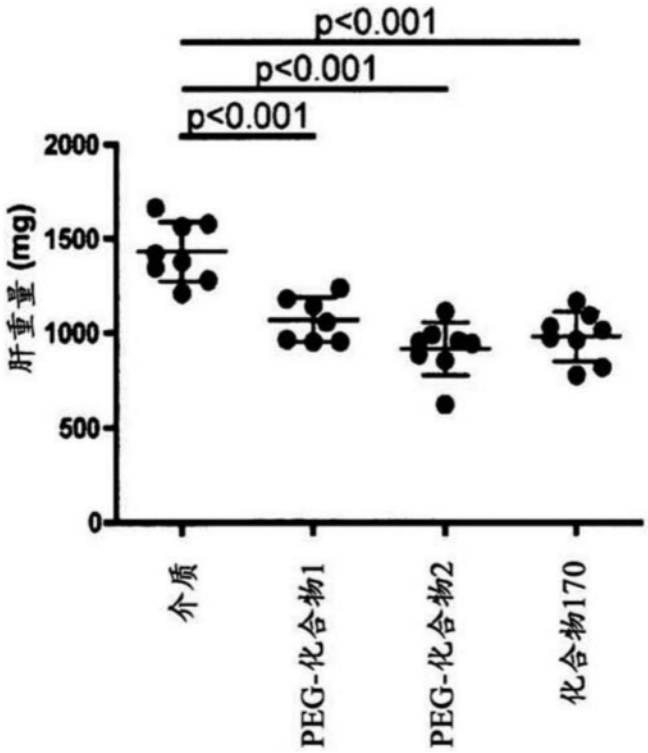

p<0.001
p<0.001
p<0.001
肝重量 (mg)
2000
1500
1000
500
0
介质
PEG-化合物1
PEG-化合物2
化合物170

图72B

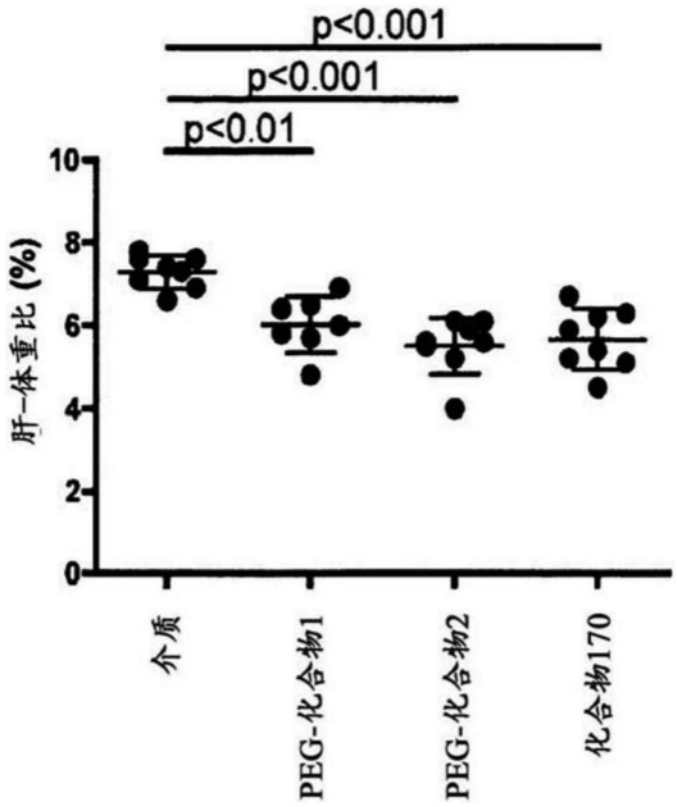


图72C

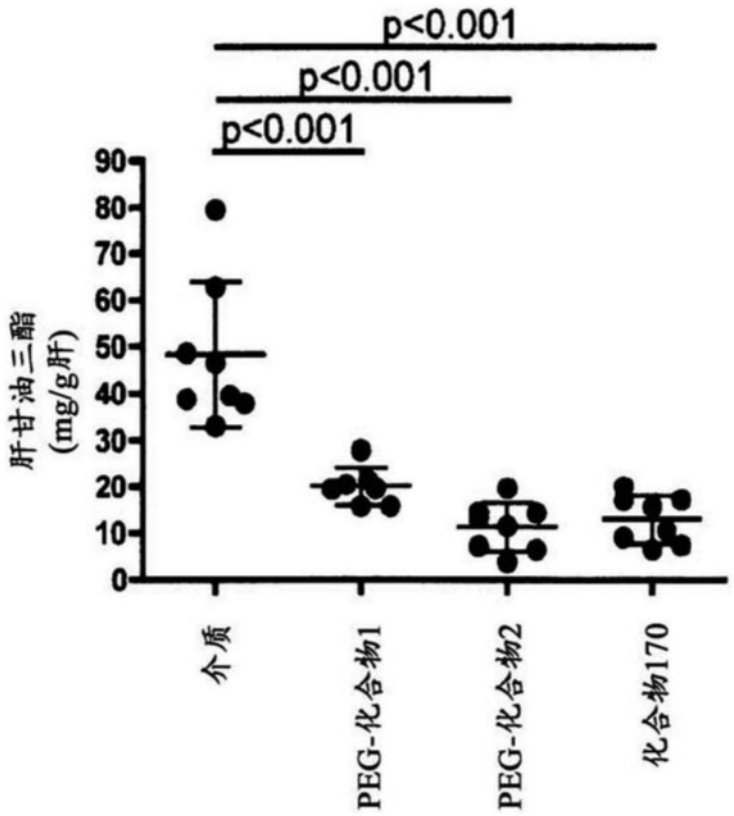

p<0.001
p<0.001
p<0.001
肝甘油三酯
(mg/g肝)
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
介质
PEG-化合物1
PEG-化合物2
化合物170

图72D

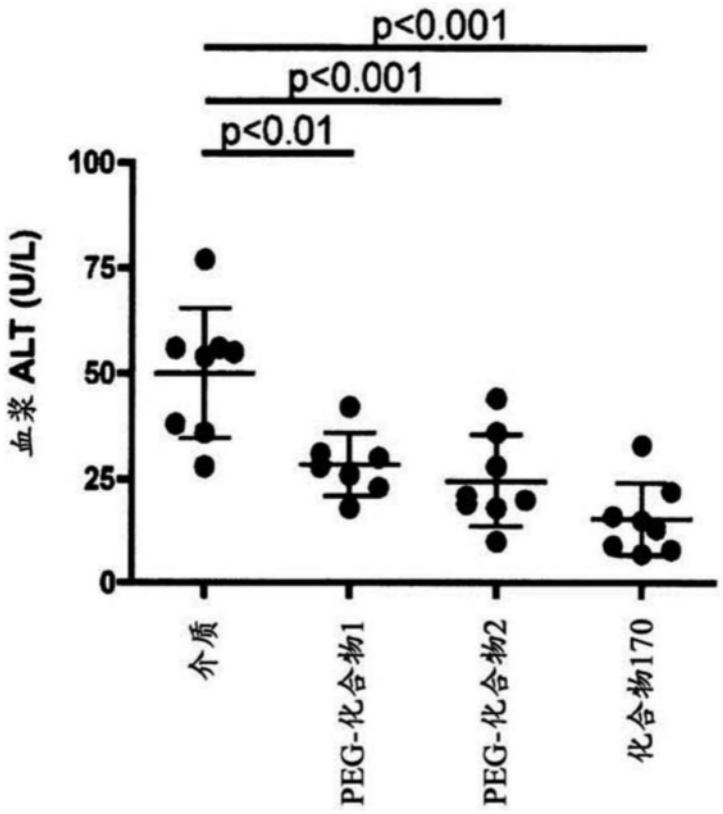

p<0.001
p<0.001
p<0.01
血浆 ALT (U/L)
100
75
50
25
0
介质
PEG-化合物1
PEG-化合物2
化合物170

图72E

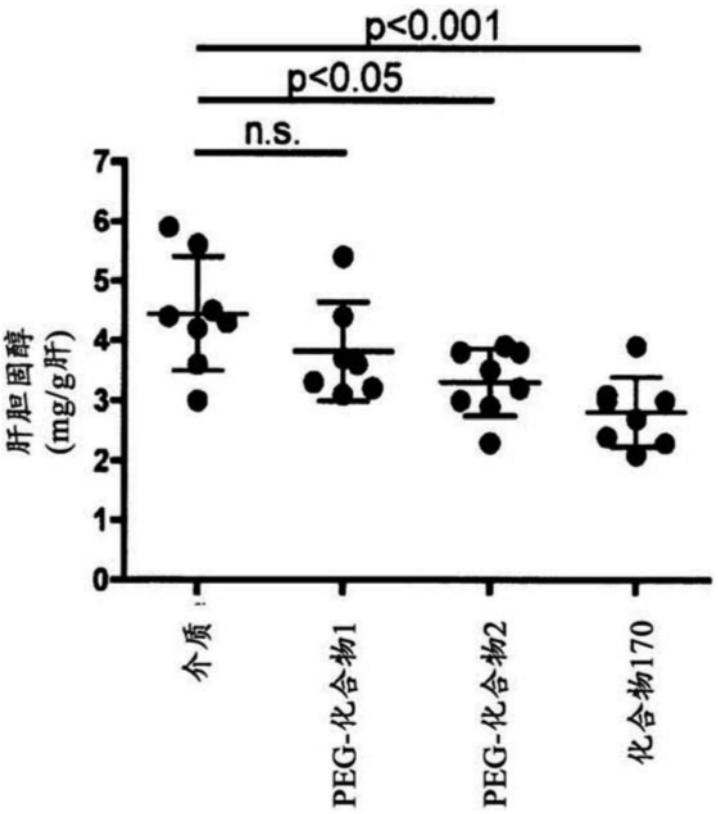


图72F

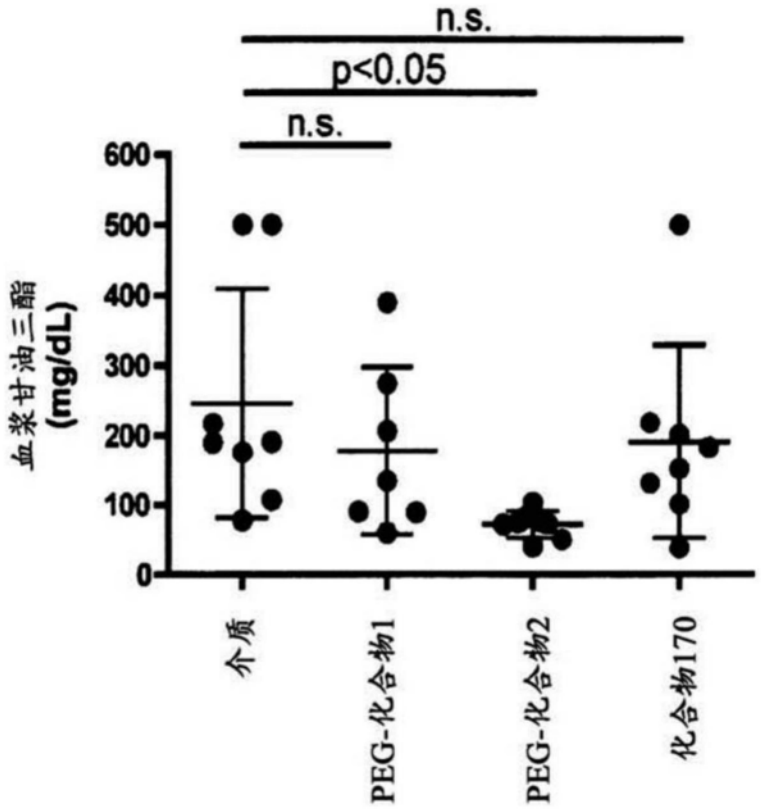

n.s.
p<0.05
n.s.
600
500
400
300
200
100
0
血浆甘油三酯
(mg/dL)
介质
PEG-化合物1
PEG-化合物2
化合物170

图72G