

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

2002 - 88

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **10.07.2000**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **09.07.1999**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **1999/350641**

(33) Země priority: **US**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **12.06.2002**
(Věstník č. 6/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/US00/18772**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO01/03723**

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. C1. ⁷:

A 61 K 38/02	C 07 K 7/08
A 61 K 38/08	C 07 K 14/00
A 61 K 38/10	
A 61 K 38/16	
A 61 K 38/18	
A 61 K 38/19	
A 61 K 38/22	
C 07 K 7/06	

(71) Přihlašovatel:

TRIMERIS, INC., Durham, NC, US;

(72) Původce:

Barney Shawn, Apex, NC, US;
Guthrie Kelly I., Virginia Beach, VA, US;
Merutka Gene, Saratoga, CA, US;
Anwer Mohmed K., Foster City, CA, US;
Lambert Dennis M., Cary, NC, US;

(74) Zástupce:

Korejzová Zdeňka JUDr., Spálená 29, Praha 1, 11000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Hybridní polypeptid

(57) Anotace:

Zesilující peptidové sekvence odvozené původně od různých proteinových sekvencí retrovirového obalu (gp41), které zlepšují farmakokinetické vlastnosti kteréhokoli polypeptidového jádra, na které jsou navázány. Řešení je založeno na objevu, že hybridní polypeptidy obsahující zesilující peptidové sekvence navázané na polypeptidové jádro mají zlepšené farmakokinetické vlastnosti, jako je zvýšený poločas. Řešení se dále týká způsobů zlepšení farmakokinetických vlastností jakéhokoli polypeptidového jádra navázáním zesilujících peptidových sekvencí na polypeptidové jádro. Polypeptidová jádra používaná při provedení řešení mohou obsahovat jakýkoli farmaceuticky použitelný peptid, který může být použit například jako léčebný nebo preventivní prostředek.

N-koncová interakční oblast										C-koncová interakční oblast									
339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	339	340	341	342	343	344	345	346	347	348
339	X	X	X	X	X	X	X	X	X	339	X	X	X	X	X	X	X	X	X
340	X	X	X	X	X	X	X	X	X	340	X	X	X	X	X	X	X	X	X
341	X	X	X	X	X	X	X	X	X	341	X	X	X	X	X	X	X	X	X
342	X	X	X	X	X	X	X	X	X	342	X	X	X	X	X	X	X	X	X
343	X	X	X	X	X	X	X	X	X	343	X	X	X	X	X	X	X	X	X
344	X	X	X	X	X	X	X	X	X	344	X	X	X	X	X	X	X	X	X
345	X	X	X	X	X	X	X	X	X	345	X	X	X	X	X	X	X	X	X
346	X	X	X	X	X	X	X	X	X	346	X	X	X	X	X	X	X	X	X
347	X	X	X	X	X	X	X	X	X	347	X	X	X	X	X	X	X	X	X
348	X	X	X	X	X	X	X	X	X	348	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Hybridní polypeptid

Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká zesilujících (enhancer) peptidových sekvencí původně odvozených od různých proteinových sekvencí retrovirového obalu (gp41), které zlepšují farmakokinetické vlastnosti jakéhokoli polypeptidového jádra, na které jsou navázány. Vynález je z části založen na objevu, že hybridní polypeptidy obsahující zesilující peptidové sekvence navázané na polypeptidové jádro (core polypeptide) mají zlepšené farmakokinetické vlastnosti, jako je zvýšený poločas. Vynález se dále týká nových antifuzogenních a/nebo antivirových peptidů včetně takových peptidů, které obsahují tyto zesilující peptidové sekvence, a způsobů použití těchto peptidů. Vynález se dále týká způsobů zlepšování farmakokinetických vlastností jakéhokoli polypeptidového jádra navázáním zesilujících peptidových sekvencí na toto polypeptidové jádro. Mezi polypeptidová jádra použitelná při provádění tohoto vynálezu může patřit jakýkoli farmakologicky využitelný peptid, který může být například použit k terapeutickým nebo preventivním účelům. V neomezuujícím provedení je vynález demonstrován na příkladu, u kterého je ukázáno, že hybridní polypeptid obsahující například polypeptidová jádro HIV navázané na zesilující peptidové sekvence, je silným, necytotoxickým inhibítozem infekce HIV-1, HIV-2 a SIV. Navíc byly zesilující peptidové sekvence podle předkládaného vynálezu navázané na polypeptidové jádro viru respiračního syncytia (RSV) a polypeptidové jádro receptoru luteinizačního hormonu (LH-RH). V každém případě bylo zjištěno, že hybridní polypeptid má zlepšené farmakokinetické vlastnosti, a že hybridní polypeptid RSV vykazoval podstatnou aktivitu proti RSV.

Dosavadní stav techniky

Tato přihláška navazuje (continuation-in-part) na přihlášku No. 09/350,641, 9. července 1999, která navazuje na přihlášku No. 09/315,304, 20. května 1999, která navazuje na přihlášku No. 09/082,279, 20. května 1998, přičemž obsah všech těchto přihlášek je
5 zařazen ve svém celku odkazem.

Polypeptidové produkty mají širokou škálu použití jako terapeutické a/nebo profylaktické látky pro prevenci a léčení onemocnění. Mnoho polypeptidů je schopno regulovat biochemické
10 nebo fyziologické procesy buď pro prevenci onemocnění nebo pro dosažení zmírnění příznaků spojených s onemocněním. Například polypeptidy jako virové nebo bakteriální polypeptidy byly úspěšně používány jako vakcíny pro prevenci patologických onemocnění. Peptidy byly dále úspěšně používány jako terapeutické prostředky pro
15 léčení příznaků onemocnění. Tyto peptidy spadají do různých kategorií, jako jsou například hormony, enzymy, imunomodulátory, sérové proteiny a cytokiny.

Aby se mohly v cílových místech projevit patřičné biologické a terapeutické účinky polypeptidů, musí být polypeptidy přítomné ve
20 vhodných koncentracích v místě působení. Navíc musí být obecně zachována jejich strukturní integrita. Proto se řídí formulace polypeptidů jako léčiv pro terapeutické použití chemickou povahou a vlastnostmi polypeptidů jako je jejich velikost a komplexnost, jejich konformační požadavky a jejich často komplikované profily z hlediska
25 stability a rozpustnosti. Farmakokinetické vlastnosti jakéhokoli konkrétního terapeuticky využitelného peptidu jsou závislé na biologické dostupnosti, distribuci a vylučování příslušného peptidu.

Protože mnoho biologicky aktivních látek jako jsou peptidy a proteiny se v těle rychle rozkládá, pro vyvinutí účinných systémů je
30 kritické udržení stálých koncentrací peptidu v krevním oběhu pro

zvýšení účinnosti takových peptidů a pro minimalizaci výskytu a vážnosti nepříznivých vedlejších účinků.

3.1 Podstata vynálezu

5 Předkládaný vynález se v prvním provedení týká zesilujících peptidových sekvencí, které jsou původně odvozeny z různých proteinových sekvencí retrovirového obalu (gp41), tj. HIV-1, HIV-2 a SIV, které zesilují farmakokinetické vlastnosti kteréhokoli polypeptidového jádra, se kterým jsou spojeny. Vynález je založen na
10 překvapivém výsledku, že jestliže se navážou popisované zesilující peptidové sekvence na kterékoli polypeptidové jádro (core polypeptide), získaný hybridní polypeptid má zlepšené farmakokinetické vlastnosti včetně například zvýšeného poločasu a snížené rychlosti vylučování vzhledem k samotnému
15 polypeptidovému jádru. Předkládaný vynález se dále týká těchto hybridních polypeptidů a polypeptidových jader a nových polypeptidů, které mají antifuzogenní účinky, antivirové účinky a/nebo schopnost modulovat intracelulární procesy, kterých se účastní peptidové struktury typu coiled-coil. Mezi tyto peptidy patří takové peptidy, které
20 obsahují zesilující peptidové sekvence.

Polypeptidová jádra mohou obsahovat jakékoli peptidy, které mohou být zavedeny do živého systému, například jakékoli peptidy schopné fungovat jako terapeutické, profylaktické nebo zobrazovací reagentie použitelné pro léčení nebo prevenci onemocnění nebo pro
25 diagnostické nebo prognostické metody, včetně metod zobrazování in vivo. Mezi tyto peptidy patří například růstové faktory, hormony, cytokiny, angiogenní růstové faktory, polypeptidy extracelulární matrice, receptorové ligandy, agonisté, antagonisté nebo inverzní agonisté, látky zacílené na peptidy, jako jsou zobrazovací látky nebo
30 cytotoxické zacílené látky, nebo polypeptidy vykazující antifuzogenní

a/nebo antivirové účinky, a peptidy nebo polypeptidy fungující jako antigeny nebo imunogeny, včetně například virových a bakteriálních polypeptidů.

5 Vynález se dále týká způsobů zesílení farmakokinetických vlastností jakéhokoli polypeptidového jádra navázáním polypeptidového jádra na zesilující peptidové sekvence za vytvoření hybridních polypeptidů.

10 Vynález se ještě dále týká způsobů použití zde popisovaných polypeptidů, včetně hybridních polypeptidů obsahujících zesilující peptidové sekvence. Mezi způsoby podle vynálezu patří například způsoby snižování nebo inhibice virové infekce, například HIV-1, HIV-2, RSV, spalničky, chřipka, parainfluenza, virus Epstein-Barrové a virus hepatitidy, a/nebo buněčné fúze indukované viry. Zesilující peptidové sekvence podle vynálezu mohou být navíc použity pro
15 zvýšení poločasu polypeptidového jádra, na které byly navázány sekvence zesilujícího peptidu, in vitro nebo ex-vivo, například zesilující peptidové sekvence mohou zvýšit poločas navázaného polypeptidového jádra v buněčné kultuře nebo ve vzorcích buněk nebo tkáně.

20 Vynález je ukázán na příkladech, kde je ukázáno, že hybridní polypeptidy obsahující polypeptidové jádro HIV navázané na zesilující peptidové sekvence mají značně zlepšené farmakokinetické vlastnosti a působí jako silné, necytotoxické inhibitory infekce HIV-1, HIV-2 a SIV. Vynález je dále demonstrován na příkladech, ve kterých je
25 ukázáno, že hybridní polypeptidy obsahující polypeptidové jádro RSV nebo polypeptid luteinizačního hormonu, mají značně zlepšené farmakokinetické vlastnosti. Navíc bylo zjištěno, že hybridní polypeptid RSV měl významnou anti-RSV aktivitu.

3.2 Definice

Peptidy, polypeptidy a proteiny jsou zde definovány jako organické sloučeniny obsahující dvě nebo více kovalentně navázaných aminokyselin, například peptidovými amidovými vazbami. Peptidy, polypeptidy a proteiny mohou také obsahovat aminokyseliny, které se nevyskytují v přírodě, a jakékoli modifikace a další aminové a karboxylové skupiny, jak se zde popisuje. Termíny „peptid“, „polypeptid“ a „protein“ se zde proto používají zaměnitelně.

Peptidové sekvence definované v předkládaném vynálezu jsou znázorněny následujícími jednopísmenovými symboly pro zbytky aminokyselin:

- A (alanin)
- R (arginin)
- N (asparagin)
- 15 D (kyselina asparagová)
- C (cystein)
- Q (glutamin)
- E (kyselina glutamová)
- G (glycin)
- 20 H (histidin)
- I (isoleucin)
- L (leucin)
- K (lysin)
- M (methionin)
- 25 F (fenylalanin)
- P (prolin)
- S (serin)
- T (threonin)
- W (tryptofan)
- 30 Y (tyrosin)
- V (valin)

X (jakákoli aminokyselina)

„Zesilující peptidové sekvence“ („enhancer peptide sequences“) jsou definovány jako peptidy, které mají následující konvenční (consensus) aminokyselinové sekvence:

- 5 „WXXWXXXI“, „WXXWXXX“, „WXXWXX“, „WXXWX“, „WXXW“, „WXXXWXWX“, „XXXWXWX“, „XXWXWX“, „XWXWX“, „WXWX“, „WXXXWXW“, „WXXXWX“, „WXXXW“, „IXXXWXXW“, „XXXWXXW“, „XXWXXW“, „XWXXW“, „XWXWXXXW“, „XWXWXXX“, „XWXWXX“, „XWXWX“, „XWXW“, „WXWXXXW“ nebo „XWXXXW“, kde X může být
- 10 jakákoli aminokyselina, W znamená tryptofan a I znamená isoleucin.
- Jak se popisuje dále, zesilující peptidové sekvence podle vynálezu zahrnují také peptidové sekvence, které jsou jinak stejné jako konvenční aminokyselinové sekvence, ale obsahují substituce, inserce nebo delece aminokyselin, které však nesnižují schopnost peptidu
- 15 zesilovat farmakokinetické vlastnosti polypeptidového jádra, na které jsou navázány, vzhledem k farmakokinetickým vlastnostem samotného polypeptidového jádra.

„Polypeptidové jádro“ (core polypeptid), jak se zde používá, označuje jakýkoli polypeptid, který může být zaveden do živého

20 systému a představuje tak biologicky aktivní molekulu, například jakýkoli polypeptid, který může fungovat jako farmakologicky použitelný peptid pro léčení nebo prevenci onemocnění.

„Hybridní polypeptid“, jak se zde používá, označuje jakýkoli polypeptid obsahující aminokoncovou, karboxykoncovou nebo amino-

25 a karboxykoncovou sekvenci zesilujícího peptidu a polypeptidové jádro. Sekvence zesilujícího peptidu je typicky navázána přímo na polypeptidové jádro. Je třeba rozumět, že zesilující polypeptid může být také navázán na mezilehlou aminokyselinovou sekvenci přítomnou mezi sekvencí zesilujícího peptidu a polypeptidovým jádrem.

„Antifuzogenní“ a „působící proti fúzi s membránou“, jak se zde používá, označuje schopnost peptidu inhibovat nebo omezovat míru fúzních dějů mezi dvěma nebo více strukturami, například buněčnými membránami nebo obaly viru nebo pilusy, vzhledem k míře 5 membránové fúze, ke které dochází mezi strukturami v nepřítomnosti peptidu.

„Antivirový“, jak se zde používá, označuje schopnost peptidu inhibovat virovou infekci buněk prostřednictvím například buněčné fúze nebo infekce volným virem. Tato infekce může zahrnovat 10 membránovou fúzi, jak k tomu dochází v případě virů opatřených obaly, nebo jiný fúzní děj zahrnující virovou strukturu a buněčnou strukturu, například fúze virového pilusu a bakteriální membrány při konjugaci bakterií.

15 **4. Přehled obrázků na výkresech**

Obr. 1. Hybridní polypeptidy. Zesilující peptidové sekvence odvozené od domnělých N-koncových a C-koncových interaktivních oblastí jsou znázorněny navázané na obecné polypeptidové jádro. Konzervované sekvence zesilujícího peptidu jsou vystínovány. Je třeba 20 zdůraznit, že uvedené sekvence zesilujícího peptidu mohou být použity buď jako N-koncové, C-koncové nebo N- a C-koncové přídatky. Navíc mohou být zesilující peptidové sekvence přidány k polypeptidovému jádru v dopředné nebo reverzní orientaci, jednotlivě nebo v jakékoli možné kombinaci, aby se dosáhlo zesílení 25 farmakokinetických vlastností peptidu.

Obr. 2A. Zesilující peptidové sekvence odvozené od různých sekvencí obalového proteinu (gp41) reprezentující N-koncovou interaktivní oblast pozorovanou ve všech dosud publikovaných izolovaných sekvencích HIV-1, HIV-2 a SIV. Konečná sekvence 30 „WXXWXXI“ označuje dohodnutou sekvenci.

Obr. 2B. Zesilující varianty peptidových sekvencí odvozené od různých sekvencí obalového proteinu (gp41) reprezentující C-koncovou interaktivní oblast pozorovanou ve všech dosud publikovaných izolovaných sekvencích HIV-1, HIV-2 a SIV. Konečná
5 sekvence „WXXXWXWX“ označuje dohodnutou sekvenci.

Obr. 3. Porovnání titrů HIV-1 ve tkáních myši SCID-HuPBMC infikovaných HIV-1 9320 při měření hladin P24 v testech společné kultivace HuPBMC. Tento obrázek ukazuje srovnání inhibice virů T20
a T1249 in vivo.

10 Obr. 4A - 4B. Farmakokinetický profil v plasmě T1249 proti kontrolnímu jádru T1387 u krys CD po i.v. injekci do 2 hod (obr. 4A) a 8 hod (obr. 4B). Polypeptid T1387 je polypeptidové jádro a polypeptid T1249 je polypeptidové jádro navázané na zesilující peptidové sekvence.

15 Obr. 5. Farmakokinetický profil v plasmě polypeptidu T1249 proti kontrole T20 u krys CD po i.v. podání. Polypeptid T1249 je hybridní polypeptid polypeptidového jádra (T1387) navázaný na zesilující peptidové sekvence. T20: n = 4; T1249: n = 3.

20 Obr. 6. Porovnání aktivity a cytotoxicity T20/T1249 anti-HIV-1/IIIb.

Obr. 7. Přímá vazba polypeptidu T1249 na konstrukt gp41 M41Δ178. ^{125}I -T1249 byl čištěný HPLC na maximální specifickou aktivitu. Je ukázána saturační vazba na M41Δ178 (fúzní protein
ektodomény gp41 postrádající T20 aminokyselinovou sekvenci)
25 imobilizovaný v mikrotitračních destičkách při koncentraci 0,5 mg/ml.

Obr. 8. Časový průběh asociace/disociace T1249. Tyto výsledky ukazují, že ^{125}I -T1249 a ^{125}I -T20 mají podobné vazebné afinity velikosti 1 až 2 nM. Rychlosti počátečního náběhu a poklesu pro ^{125}I -T1249 byly podstatně nižší než rychlosti ^{125}I -T20. Disociace navázaného

radioligancu byla měřena po přidání neznačeného peptidu na konečnou koncentraci 10 μM v 1/10 celkového objemu testu.

Obr. 9. Soutěžení o vazbu T1249 na M41 Δ 178. Neznačené T1249 a T20 byly titrovány v přítomnosti jedno koncentrace buď ^{125}I -T1249 nebo ^{125}I -T20. Ligand byl přidán pro zahájení inkubace těsně po přidání neznačeného peptidu.

Obr. 10A - 10B. Farmakokinetická profil v plasmě hybridních polypeptidů RSV T1301 (10A) a T1302 (10B) proti T786 u krys CD.

Obr. 11A. Test snížení plaků. Hybridní polypeptid T1293 je schopen inhibovat infekci virem RSV s hodnotou IC_{50} 2,6 $\mu\text{g/ml}$.

Obr. 11B. Test snížení plaků ukazuje schopnost hybridních polypeptidů RSV T1301, T1302 a T1303 inhibovat infekci RSV.

Obr. 12A a 12B. Farmakokinetický profil hybridního polypeptidu luteinizačního hormonu T1324 proti T1323 u samců krys CD. Polypeptid T1323 je polypeptidové jádro luteinizačního hormonu a polypeptid T1324 je hybridní polypeptid obsahující polypeptidové jádro navázané na zesilující peptidové sekvence.

Obr. 13A - D. Sekvence hybridního polypeptidu odvozené od různých polypeptidových jader. Sekvence polypeptidových jader jsou ukázány vystínované. Nevystínované aminokoncové a karboxykoncové sekvence představují zesilující peptidové sekvence.

Obr. 14A - B. Spektra cirkulárního dichroismu (CD) pro T1249 v roztoku (fyziologický roztok s fosfátovým pufrem, pH 7) samotný (10 μM při 1 $^{\circ}\text{C}$; obr. 14A) a v kombinaci s peptidem o délce 45 zbytků z vazebné domény HR1 gp41 (T1346); plné čtverečky (■) znamenají teoretické spektrum CD předpovězené pro „model bez interakce“, zatímco skutečná spektra CD jsou reprezentována plnými kroužky (●).

Obr. 15. Elektroforéza na polyakrylamidovém gelu ukazující ochranu T1249 konstruktu gp41 M41 Δ 178 ze štěpení proteinázou-K;

dráha 1: primerový marker; dráha 2: neštěpený M41Δ178; dráha 3: M41Δ178 inkubovaný s proteinázou-K; dráha 4: neštěpený T1249; dráha 5: T1249 inkubovaný s proteinázou-K; dráha 6: M41Δ178 inkubovaný s T1249; dráha 7: inkubace T1249 a M41Δ178 před
5 přidavkem proteinázy K.

Obr. 16A - C. Farmakokinetické vlastnosti T1249 v albinotických krysách Sprague-Dawley; obr. 16A: farmakokinetické vlastnosti T1249 při jediné podané dávce kontinuální subkutánní infuzí; obr. 16B: farmakokinetické vlastnosti v plasmě T1249 podaného subkutánní
10 injekcí (s.c.) nebo intravenózní injekcí (i.v.); obr. 16C: kinetická analýza T1249 v lymfě a plasmě po intravenózním podání.

Obr. 17A - B. Farmakokinetické vlastnosti T1249 u opic cynomologus; obr. 17A: farmakokinetické vlastnosti v plasmě jediné dávky 0,8 mg/kg T1249 subkutánní (s.c.), intravenózní (i.v.) nebo
15 intramuskulární (i.m.) injekcí; obr. 17B: farmakokinetické vlastnosti v plasmě u subkutánně podaného T1249 při třech různých dávkách (0,4 mg/kg, 0,8 mg/kg a 1,6 mg/kg).

Obr. 18A - 18D. Antivirová aktivita peptidů DP397 (—□—), T649 (—○—) a T1249 (—△—) u různých T649 rezistentních kmenů HIV-1
20 při testování testem infekčnosti Magi-CCR-5; plná (horní) a čárkovaná (dolní) vodorovná čára na každém obrázku označuje hladiny 50%, popřípadě 90% snížení infekce HIV-1; obr. 18A: antivirová aktivita DP397, T649 a T1249 u kmene HIV-1 RF-649; obr. 18B: antivirová aktivita DP397, T649 a T1249 u kmene HIV-1 DH012-649; obr. 18C:
25 antivirová aktivita DP397, T649 a T1249 u kmene HIV-1 3'ETVQQQ; obr. 18D: antivirová aktivita DP397, T649 a T1249 u kmene HIV-1 SIM-649.

5. Podrobný popis vynálezu

Popisují se peptidové sekvence označované jako zesilující peptidové sekvence odvozené od různých proteinových sekvencí retrovirového obalu (gp41), které jsou schopny zesilovat farmakokinetické vlastnosti polypeptidových jader, ke kterým jsou
5 připojeny. Tyto zesilující peptidové sekvence mohou být použity při způsobech zesílení farmakokinetických vlastností kteréhokoli polypeptidového jádra prostřednictvím navázání zesilujících peptidových sekvencí na polypeptidové jádro, za vytvoření hybridního
10 polypeptidu se zlepšenými farmakokinetickými vlastnostmi ve srovnání se samotným polypeptidovým jádrem. Může být také zvýšen poločas in vitro polypeptidového jádra, na které byly zesilující peptidové sekvence nebo více těchto sekvencí navázány. Navázané zesilující peptidové sekvence mohou například zvýšit poločas polypeptidového
15 jádra, jestliže je přítomno v buněčné kultuře, tkáňové kultuře nebo vzorcích tkáně pacienta, jako jsou buňky, tkáň nebo jiné vzorky.

Polypeptidová jádra hybridních polypeptidů podle vynálezu zahrnují jakýkoli peptid, který může být zaveden do živého systému, například jakýkoli peptid, který může fungovat jako terapeutický nebo
20 preventivní prostředek použitelný pro léčení nebo prevenci onemocnění, nebo jako zobrazovací prostředek použitelný pro zobrazování struktur in vivo.

Popisují se zde také peptidy včetně peptidů, které obsahují zesilující peptidové sekvence, které mají antifuzogenní a/nebo
25 antivirové účinky. Dále se popisují způsoby použití těchto peptidů včetně způsobů snížení nebo inhibice virové infekce, a/nebo virem indukované buněčné fúze.

5.1 Hybridní polypeptidy

Hybridní polypeptidy podle vynálezu obsahují alespoň jednu zesilující peptidovou sekvenci a polypeptidové jádro. Hybridní polypeptidy podle vynálezu obsahují s výhodou alespoň dvě zesilující peptidové sekvence a polypeptid jádra, přičemž alespoň jeden
5 zesilující peptid je v hybridním polypeptidu přítomen na aminovém konci vzhledem k polypeptidu jádra, a alespoň jedna zesilující peptidová sekvence je v hybridním polypeptidu přítomna na karboxylovém konci vzhledem k polypeptidu jádra.

10 Zesilující peptidové sekvence podle vynálezu zahrnují peptidové sekvence odvozené původně od různých proteinových sekvencí retrovirového obalu (gp 41), včetně sekvencí HIV-1, HIV-2 a SIV, a jejich dále popisované specifické variace nebo modifikace. Polypeptidové jádro může obsahovat jakoukoli peptidovou sekvenci,
15 s výhodou jakoukoli peptidovou sekvenci, která může být zavedena do živého systému, včetně například peptidů použitelných pro terapeutické, profylaktické nebo zobrazovací účely.

Hybridní polypeptid bude mít typicky délku v rozmezí přibližně 10 až přibližně 500 aminokyselinových zbytků, přičemž výhodná je
20 délka přibližně 10 až přibližně 100 aminokyselinových zbytků, a nejvýhodnější je délka přibližně 10 až přibližně 40 aminokyselinových zbytků.

Aniž by si autoři přáli být vázáni jakoukoli konkrétní teorií, struktura obalového proteinu je taková, že domnělá oblast α -šroubovice umístěná v C-koncové oblasti proteinu se podle
25 předpokladů asociuje s oblastí leucinového zipu umístěnou v N-koncové oblasti proteinu. Uspořádání N-koncové a C-koncové zesilující peptidové sekvence oblastí gp41 bylo pozorováno u všech v současnosti publikovaných izolovaných sekvencí HIV-1, HIV-2 a SIV
30 konvenčních aminokyselinových sekvencí.

Byly konkrétně identifikovány následující konvenční aminokyselinové sekvence reprezentující konvenční zesilující peptidové sekvence (konvenční sekvence jsou dále uvedeny v dopředných (forward, tj. ve směru 5' 3' příslušného genu) a reverzních (reverse, tj. ve směru 3' 5' příslušného genu) orientacích, protože tyto zesilující peptidové sekvence mohou být použity buď v dopředné nebo reverzní orientaci: „WXXWXX“, „WXXWXXX“, „WXXWX“, „WXXW“, „WXXXWXWX“, „XXXWXWX“, „XXWXWX“, „XWXWX“, „WXXXWX“, „WXXXW“, „IXXXWXXW“, „XXXWXXW“, „WXWX“, „WXXXWXW“, „XXWXXW“, „XWXXW“, „XWXWXXXW“, „XWXWXXX“, „XWXWXX“, „XWXWX“, „XWXW“, „WXWXXXW“ nebo „XWXXXW“, kde X může být jakákoli aminokyselina, W znamená tryptofan a I znamená isoleucin. Dopředné orientace konvenčních aminokyselinových sekvencí jsou ukázány v obr. 1 a 2.

Zesilující peptidová sekvence bude mít typicky délku přibližně 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 nebo 30 aminokyselinových zbytků, kde výhodná je délka přibližně 4 až přibližně 20 zbytků, výhodnější je délka přibližně 4 až přibližně 10 zbytků a nejvýhodnější je délka přibližně 6 až přibližně 8 zbytků.

Ve výhodném provedení vynálezu obsahují zesilující peptidové sekvence, které mohou být použity pro zlepšení farmakokinetických vlastností výsledných hybridních polypeptidů, specifické zesilující peptidové sekvence ukázané na obr. 2, 13, a v tabulce 1 níže. Mezi nejvýhodnějšími zesilujícími peptidovými sekvencemi jsou sekvence obsahující následující aminokyselinovou sekvenci: „WQEWEQKI“ a „WASLWEWF“.

Jako neomezující příklad uvádí tabulka 1 níže aminokyselinové sekvence, které představují výhodná provedení zesilujících peptidových sekvencí mezi peptidovými sekvencemi podle vynálezu.

Je třeba rozumět, že zatímco dopředná orientace těchto sekvencí je znázorněna níže, do rámce předkládaného vynálezu spadá také reverzní orientace sekvencí. Například jestliže je dále znázorněna dopředná orientace zesilující peptidové sekvence „WMEWDREI“, její
 5 reverzní orientace, tj. „IERDWEMW“, má být do vynálezu zahrnuta také.

Tabulka 1

	WMEWDREI
10	WQEWERKV
	WQEWQKV
	MTWMEWDREI
	NNMTWMEWDREI
	WQEWQKVRYLEANI
15	NNMTWQEWQKVRYLEANI
	WNWFI
	WQEWDRISNYTSLI
	WQEWEREISAYTSLI
	WQEWDRREI
20	WQEWFI
	WNWF
	WQEW
	WQAW
	WQEWQKI
25	WASLWNWF
	WASLFNFF
	WDVFTNWL
	WASLWEWF
	EWASLWEWF
30	WEWF
	EWEIF

IEWEWF
IEWEW
EWEW
WASLWEWF
5 WAGLWEWF
AKWASLWEWF
AEWASLWEWF
WASLWAWF
AEWASLWAWF
10 AKWASLWAWF
WAGLWAWF
AEWAGLWAWF
WASLWAW
AEWASLWAW
15 WAGLWAW
AEWAGLWAW
DKWEWF
IEWASLWEWF
IKWASLWEWF
20 DEWEWF
GGWASLWNWF
GGWNWF

V dalším výhodném provedení obsahují konkrétní zesilující
peptidové sekvence podle vynálezu zesilující sekvence znázorněné na
25 obr. 2, 13 a v tabulce 1, které obsahují konzervativní substituce
aminokyselin v jedné, dvou nebo třech polohách, kde uvedené
substituce nezmenšují schopnost zesilující peptidové sekvence
zlepšovat farmakokinetické vlastnosti hybridního polypeptidu vzhledem
k odpovídajícímu polypeptidovému jádru.

30 Nejvýhodnější je, jestliže tyto substituce vedou k zesilujícím
peptidovým sekvencím, které spadají do některé z konvenčních

sekvencí zesilujících peptidových sekvencí. Obecně se substituce tedy provádějí na aminokyselinových zbytcích odpovídajících polohám „X“ znázorněných u konvenčních aminokyselinových sekvencí uvedených výše, a v obr. 1 a 2. „Konzervativní substituce“ označují substituce
5 aminokyselinovými zbytky s podobnými vlastnostmi z hlediska náboje, velikosti a/nebo hydrofobních/hydrofilních vlastností, jako substituovaný aminokyselinový zbytek. Tyto vlastnosti aminokyselin jsou odborníkům v oboru dobře známé.

Předkládaný vynález dále poskytuje zesilující peptidové
10 sekvence obsahující aminokyselinové sekvence z obr. 1, 2, 13 a tabulky 1, které jsou jinak stejné, ale takové zesilující peptidové sekvence obsahují jednu nebo více adicí aminokyselin (obecně ne více než v délce přibližně 15 aminokyselin), delecí (například zkrácení na aminovém nebo jiném konci), nebo nekonzervativní substituce, které
15 však nezmenšují schopnost výsledného zesilujícího peptidu zlepšovat farmakokinetické vlastnosti polypeptidových jader, na která jsou navázány, ve srovnání s polypeptidovými jádry, která tyto zesilující peptidové sekvence neobsahují. Adice nejsou obecně větší než přibližně 15 aminokyselinových zbytků a mohou obsahovat adice 1, 2,
20 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 nebo 15 za sebou následujících aminokyselinových zbytků. Celkový počet aminokyselinových zbytků přidaných k původnímu zesilujícímu peptidu není s výhodou vyšší než přibližně 15 aminokyselinových zbytků, výhodněji není větší než přibližně 5 aminokyselinových zbytků.

25 Delece nejsou s výhodou větší než přibližně celkem 3 aminokyselinové zbytky (buď za sebou následujících nebo jiných zbytků), lépe 2 aminokyselinové zbytky, nejvýhodněji delece jediných aminokyselinových zbytků. Obecně budou delece aminokyselinových zbytků odpovídat zbytkům „X“ zesilujících konvenčních peptidových
30 sekvencí.

Zesilující peptidové sekvence podle vynálezu také obsahují konkrétní zesilující peptidové sekvence znázorněné v obr. 2, 13 a v tabulce 1, které obsahují jednu, dvě nebo tři nekonzervativní substituce aminokyselin, přičemž výhodné jsou dvě takové substituce, a nejuvhodnější je jedna taková substituce. „Nekonzervativní“ substituce označují substituce aminokyselinovými zbytky, které nemají podobný náboj, velikost a/nebo hydrofobně-hydrofilní vlastnosti jako nahrazované aminokyselinové zbytky. Tyto vlastnosti aminokyselin jsou odborníkům v oboru dobře známy.

Navíc substituce aminokyselin nemusí být, a v některých případech s výhodou nejsou, omezeny na geneticky kódované aminokyseliny. Peptidy mohou ovšem obsahovat geneticky nekódované aminokyseliny. Navíc k přirozeně se vyskytujícím geneticky kódovaným aminokyselinám mohou být tedy aminokyselinové zbytky v peptidech substituovány v přírodě se vyskytujícími nekódovanými aminokyselinami a syntetickými aminokyselinami. Takové substituce mohou být také přítomny v polypeptidových jádrech hybridních polypeptidů podle vynálezu, ať už jsou přítomny v zesilující sekvenci nebo sekvencích určitého hybridního polypeptidu, nebo nejsou.

Některé běžně používané aminokyseliny, které poskytují použitelné substituce, zahrnují bez omezení β -alanin (β -Ala) a další omega-aminokyseliny jako je kyselina 3-aminopropionová, kyselina 2,3-diaminopropionová (Dpr), kyselina 4-aminomáselná atd.; kyselina α -aminoisomáselná (Aib); kyselina ϵ -aminohexanová (Aha); kyselina β -aminovalerová (Ava); N-methylglycin nebo sarkosin (MeGly); ornithin (Orn); citrulin (Cit); t-butylalanin (t-BuA); t-butylglycin (t-BuG); N-methylisoleucin (Melle); fenyglycin (Phg); cyklohexylalanin (Cha); norleucin (Nle); naftylalanin (Nal); 4-chlorfenylalanin (Phe(4-Cl)); 2-fluorfenylalanin (Phe(2-F)); 3-fluorfenylalanin (Phe(3-F)); 4-fluorfenylalanin (Phe(4-F)); penicilamin (Pen); kyselina 1,2,3,4-

-tetrahydroisochinolin-3-karboxylová (Tic); β -2-thienylalanin (Thi); methioninsulfoxid (MSO); homoarginin (hArg); N-acetyllysin (AcLys); kyselina 2,4-diaminomásečná (Dbu); kyselina 2,3-diaminomásečná (Dab); *p*-aminofenylalanin (Phe(pNH_2)); N-methylvalin (MeVal);
5 homocystein (hCys), homofenylalanin (hPhe) a homoserin (hSer); hydroxyprolin (Hyp), homoprolin (hPro), methylované aminokyseliny, cyklické analogy aminokyselin (používané například pro omezení aminokyselinových zbytků do určitých konformačních stavů, například $\alpha\alpha'$ - a $\beta\beta'$ -substituované cyklické aminokyseliny, jako je kyselina 1-
10 -aminocyklopentankarboxylová (cykloleucin) a kyselina β,β -cyklopentamethylen- β -merkaptopropionová (viz např. Hruby a další, 1990, Biochem. J. 268: 249 - 262) a peptoidy nebo oligopeptoidy (N-substituované aminokyseliny, např. N-substituované glyciny; viz např. Simon a další, 1972, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 9367 - 9371).)

15 I když ve většině případů budou aminokyseliny peptidu substituovány L-enantiomerními aminokyselinami, substituce nejsou na L-enantiomerní aminokyseliny omezeny. V definici jsou tedy také zahrnuty „mutované“ nebo „pozměněné“ formy, kde L-aminokyselina je nahrazena identickou D-aminokyselinou (např. L-Arg - D-Arg), nebo D-
20 aminokyselinou stejné kategorie nebo subkategorie (například L-Arg - D-Lys), a naopak. Tyto substituce mohou být také přítomny uvnitř polypeptidových jader hybridních polypeptidů podle vynálezu, ať už jsou přítomny v zesilující sekvenci nebo sekvencích určitého hybridního polypeptidu nebo nejsou.

25 Navíc k výše popsaným substitucím aminokyselin mohou být provedeny náhrady skupin postranního řetězce, například zavedením methylové skupiny nebo pseudoisosterické skupiny s rozdílnými elektronovými vlastnostmi (viz například Hruby a další, 1990, Biochem. J. 268: 249 - 262). Navíc mohou být mezi sousedními atomy uhlíku
30 aminokyselin zavedeny dvojně vazby a mohou být vytvořeny cyklické peptidy nebo analogy zavedením kovalentních vazeb, jako je vytvoření

amidové vazby mezi C-konci, mezi dvěma postranními řetězci nebo mezi postranním řetězcem a N- nebo C-koncem peptidu. Tyto substituce mohou být také přítomny uvnitř polypeptidového jádra hybridních polypeptidů podle vynálezu, ať už jsou přítomny v zesilující sekvenci nebo sekvencích určitého hybridního polypeptidu, nebo nejsou.

Polypeptidové jádro a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být také konjugovány s jednou nebo více chemickými skupinami. Chemické skupiny používané pro konjugaci nejsou s výhodou výrazně toxické nebo imunogenní, tj. jakákoli toxicita nebo imunogenicita pozorovaná u konjugátu jádra nebo hybridního polypeptidu, není významně (tj. méně než 50 %) vyšší než případná toxicita nebo imunogenicita pozorovaná u odpovídajícího nemodifikovaného polypeptidového jádra nebo hybridního polypeptidu. Chemické modifikace jádra a/nebo hybridních polypeptidů mají ovlivňovat farmakokinetické vlastnosti polypeptidu. Mezi tyto účinky patří snížení nebo zvýšení účinnosti léčiva, stability, biologické aktivity, vylučování, imunogenicity a poločasu in vivo, stejně jako účinky na katabolizaci, dopravu a lokalizaci polypeptidu.

V jednom provedení jsou hybridní polypeptidy konjugovány s jednou nebo více chemickými skupinami jak na části jádra, tak i na části zesilujícího polypeptidu. V dalším provedení jsou tyto modifikace provedeny na polypeptidovém jádru nebo částech zesilujícího peptidu hybridních polypeptidů. V ještě dalším provedení je modifikována pouze část polypeptidového jádra hybridního polypeptidu. V ještě dalším provedení je polypeptid jádra modifikován jednou nebo více chemickými skupinami, přičemž tento polypeptid jádra není přítomen jako část hybridního polypeptidu. Například polypeptid jádra jako je T1387 (Ac-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK-NH₂) může být modifikován použitím jedné nebo více chemických skupin.

Mezi příklady chemických skupin použitelných pro konjugaci patří neproteinové polymery, jako jsou polyoly. Mezi další chemické skupiny patří proteiny, jako je například albumin nebo immunoglobulin, stejně jako uhlohydráty, jako jsou například uhlohydráty, které se přirozeně vyskytují v glykoproteinech. Pro modifikaci proteinů byly také použity dextran, DL-aminokyseliny a polyvinylpyrrolidon. Pro přehled peptidů modifikovaných polymery viz např. Burnham, Am. J. Hosp. Pharm. 51: 210 - 18 (1994), který se zařazuje ve svém celku odkazem.

Polypeptid může být například konjugován k jádru nebo hybridnímu polypeptidu na jednom nebo více aminokyselinových zbytcích, včetně například zbytků lysinu, cysteinu a histidinu. Použitý polyol může být jakýkoli ve vodě rozpustný poly(alkylenoxidový) polymer a může mít buď přímý nebo rozvětvený řetězec. Mezi vhodné polyoly patří sloučeniny substituované na jedné nebo více hydroxylových skupinách chemickou skupinou jako je alkylová skupina obsahující mezi 1 a 4 atomy uhlíku. Typicky je polyolem poly(alkylenglykol), jako je poly(ethylenglykol) (PEG), a pro usnadnění popisu se tedy zbytek diskuse týká provedení, ve kterých je použitým polyolem PEG, a proces konjugace polyolu k jádru nebo hybridnímu polypeptidu se nazývá „pegylace“. Odborníkům v oboru však bude zřejmé, že mohou být použity jiné polyoly, jako je například poly(propylenglykol) a kopolymery polyethylen-polypropylenglykol, s použitím technik konjugace popisovaných zde pro PEG. Pro přehled modifikací biologicky aktivních molekul pomocí PEG nebo jeho derivátů viz např. Inada a další, *Trends Biotechnol.* 13: 86 - 91 (1995), který se zařazuje ve svém celku odkazem.

Stupeň pegylace polypeptidového jádra nebo hybridního polypeptidu podle předkládaného vynálezu může být nastaven tak, aby se dosáhlo vhodného zvýšení poločasu in vivo ve srovnání s odpovídajícím nepegylovaným proteinem. Poločas pegylovaného jádra nebo hybridního polypeptidu se může postupně zvyšovat se

vzrůstajícím stupněm pegylace. Bylo ukázáno, že modifikace proteinů pomocí PEG nebo derivátů PEG zvyšuje žádoucím způsobem účinnost léčiva, biologickou aktivitu, stabilitu (včetně rezistence proti teplotě, chemickým denaturujícím látkám a proteolýze), absorpci/příjem in vivo a poločas in vivo, stejně jako žádoucím způsobem snižuje rychlosti vylučování a imunogenicitu (US patent No. 6,025,325; Westerman a další, *Int. J. Cancer* 76: 842 - 50 (1998); Conover a další, *Artif. Organs* 21: 907 - 15 (1997); Tsutsumi a další, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 278: 1006 - 11 (1996); Kaneda a další, *Invasion Metastasis* 15: 156 - 62 (1995); Inada a další, *Trends Biotechnol.* 13: 86 - 91 (1995); Paige a další, *Pharm. Res.* 12: 1883 - 88 (1995); Satake-Ishikawa a další, *Cell Struct.Funct.* 17: 157 - 60 (1992); Tanaka a další, *Cancer Res.* 51: 3710 - 3714 (1991), které jsou zařazeny ve svém celku odkazem).

Průměrná molekulová hmotnost PEG může být od přibližně 500 do přibližně 30 000 daltonů (D); s výhodou od přibližně 1000 do přibližně 25 000 D; a nejvýhodněji od přibližně 4000 do přibližně 20 000 D. V jednom provedení se pegylace provádí použitím PEG s průměrnou molekulovou hmotností přibližně 5000 D (dále označován jako „PEG (5000)“). V dalším provedení má PEG s rozvětveným řetězcem dva řetězce po přibližně 10 000 D.

Preparáty PEG, které jsou komerčně dostupné a vhodné pro použití v předkládaném vynálezu, jsou nehomogenní preparáty, které jsou dodávány pod průměrnou molekulovou hmotností. Například preparáty PEG (5000) typicky obsahují molekuly, které mají mírně odlišnou molekulovou hmotnost, obvykle ± 500 D. Byla popsána řada metod pro pegylaci proteinů, viz např. US patent No. 4,179,337, který se zařazuje ve svém celku odkazem, které popisují konjugaci celé řady hormonů a enzymů k PEG a polypropylenglykolu pro získání fyziologicky aktivních neimunogenních prostředků. Reakční podmínky pro vazbu PEG na protein se liší v závislosti na cílovém proteinu,

požadovaném stupni pegylace, typu PEG nebo použitého derivátu, a cílovým bodem pro navázání. Mezi další vlastnosti patří stabilita, reaktivita a antigenicita vazby PEG. Obecně reaguje PEG obsahující alespoň jednu koncovou hydroxylovou skupinu s vazebným činidlem
5 za vytvoření aktivovaného PEG s koncovou reaktivní skupinou. Tato reaktivní skupina potom reaguje s α - a ϵ -aminy proteinů za vytvoření kovalentní vazby. Aminové skupiny mohou konjugovat s hydroxylovou skupinou PEG za vytvoření amidové vazby. Karboxylové skupiny mohou konjugovat s aminovými skupinami polypeptidového jádra nebo
10 hybridního polypeptidu za vytvoření amidové vazby a s hydroxylovou skupinou PEG za vytvoření esteru. Druhý konec molekuly PEG může být vhodně „blokován“ nereaktivní chemickou skupinou jako je skupina methoxy pro vytvoření například alkylovaných PEG jako je methoxy-PEG (MPEG), který snižuje tvorbu komplexů proteinových molekul
15 zesíťených PEG.

Pro konjugaci polypeptidového jádra, zesilujících sekvencí nebo hybridního polypeptidu k PEG může být použito několik typů vazebných skupin známých v oboru. Pro příklady vazebných skupin viz např. US patent No. 4,609,546; US patent No. 4,847,325; US patent
20 No. 4,902,502; US patent No. 5,034,514; a US patent No. 5,122,614. V jednom provedení se jako vazebné skupiny používá zesilující peptidové sekvence.

Vhodně aktivované PEG mohou být produkovány řadou běžných reakcí. Například N-hydroxysukcinimidester PEG (M-NHS-PEG) může
25 být připraven z PEG-monomethyletheru (který je komerčně dostupný od firmy Union Carbide) reakcí s N,N'-dicyklohexylkarbodiimidem (DCC) a N-hydroxysukcinimidem (NHS), podle metody Buckmanna a Merra, *Makromol. Chem.*, 182: 1379 - 1384 (1981).

Koncová hydroxylová skupina PEG může být navíc převedena
30 na aminovou skupinu, například reakcí s thionylbromidem za vytvoření PEG-Br, a další aminolýzou nadbytkem amoniaku za vytvoření PEG-

NH₂. PEG-NH₂ se potom konjuguje s příslušným proteinem použitím standardních vazebných činidel, jako je Woodwardovo činidlo K. Navíc může být koncová skupina PEG -CH₂OH převedena na aldehydovou skupinu, například oxidací MnO₂. Aldehydová skupina se k proteinu konjuguje redukční alkylací s činidlem jako je kyanoborohydrid. Aminokyseliny mohou být také na PEG navázány přes své aminové skupiny pomocí vhodné vazby, jako je například urethanová skupina. Aminokyselina norleucin, která se nevyskytuje v přírodě, může být aktivována na své karboxylové skupině za vytvoření sukcinimidylesteru pro vazbu na aminové skupiny proteinu (Zalipsky a další, *Int. J. Peptide Protein Res.* 30: 740 (1987); Sartore a další, *Appl. Biochem. Biotech.* 27: 45 (1991)). Obecný přehled týkající se pegylace je možno nalézt například v Zalipsky a Lee, „Poly(EthylenGlycol)Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications“, J. M. Harris, ed., Plenum, NY, kap. 21 (1992), který se zařazuje ve svém celku odkazem.

Alternativně je možno od různých dodavatelů získat PEG vhodné pro použití při předkládaném vynálezu, jako je bez omezení akrylát PEG, aldehyd PEG, allyl PEG, amino PEG, aminokyselina PEG, estery PEG s aminokyselinou, ω-amino-α-karboxyl PEG, benzotriazol karbonát, biotin PEG, t-Boc PEG, karbonylimidazol PEG, karboxymethylovaný PEG, epoxid PEG, FMOC PEG, fluorescein PEG, hydrazid PEG, ω-hydroxy α-amino PEG, ω-hydroxy α-karboxyl PEG, isokyanát PEG, maleimid PEG, methakrylátový ester PEG, NHS-maleimid, NHS-vinylsulfon, p-nitrofenylkarbonát PEG, orthopyridyldisulfid, PEG2, fosfolipid PEG, kyselina propionová PEG, silan PEG, sukcinát PEG, sukcinimidylbutanoát PEG (SBA-PEG), sukcinimidylester aminokyseliny PEG, sukcinimidylester karboxymethylovaného PEG, sukcinimidylpropionát PEG (SPA-PEG), sukcinimidylsukcinát PEG (SS-PEG), thiol PEG, vinylsulfon PEG. Například firma Shearwater Polymers, Inc. (Huntsville, Ala.) dodává M-

NHS-PEG jako „SCM-PEG“ navíc k sukcinylkarbonátu MPEG („SC-PEG“) a sukcinimidylpropionátu MPEG („SPA-PEG“).

Konkrétní aminokyseliny tvořící hybridní polypeptid nebo polypeptidové jádro mohou být modifikovány například pro zabránění
5 a/nebo umožnění pegylace určitých aminokyselinových zbytků. V jednom provedení mohou být potenciální místa pegylace inaktivována modifikací aminokyselinových zbytků, které mají být pegylovány. Například všechny aminokyselinové zbytky obsahující v polypeptidovém jádru nebo hybridním polypeptidu volnou
10 aminokyselinu, mohou být chráněny, čímž se zabrání pegylaci na těchto zbytcích. Mezi vhodné ochranné skupiny patří bez omezení terc-butoxykarbonyl (t-Boc) a N-9-fluorenylmethyloxykarbonyl (Fmoc). Může být použita jakákoli ochranná skupina aminové skupiny vhodná pro syntézu peptidů. Několik takových ochranných skupin se popisuje
15 v publikaci Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1981, str. 323 - 334; a Fields a Noble, *Int. J. Pept. Protein Res.* 35: 161 - 214 (1990), která se zařazuje ve svém celku odkazem. V případě potřeby mohou být ochranné skupiny následně odstraněny běžnými chemickými postupy, například
20 působením piperidinu v dimethylformamidu v případě Fmoc, nebo působením kyseliny trifluoroctové v případě t-Boc.

Alternativně mohou být nahrazeny aminokyselinové zbytky polypeptidového jádra nebo hybridního polypeptidu, které jsou náchylné k pegylaci, například místně specifickou mutagenezí,
25 aminokyselinovým zbytkem rezistentním k pegylaci. Navíc mohou být pro vytvoření hybridních polypeptidů použity zesilující peptidové sekvence postrádající aminokyselinové zbytky vnímavé k pegylaci.

V dalším provedení mohou být jeden nebo více aminokyselinových zbytků polypeptidového jádra nebo hybridního polypeptidu modifikovány tak, aby byla zavedena další pegylační
30 místa. Například jeden nebo více aminokyselinových zbytků vnímavých

k pegylaci mohou být nahrazeny nebo přidány do polypeptidu jakýmkoli v oboru známým způsobem, jako jsou standardní syntetické postupy, nebo v případě rekombinantních technik pomocí místně specifické mutagenese (Zoller a další, *Nucl. Acids Res.* 10: 6487 (1987); Carter a další, *Nucl. Acids Res.* 13: 4331 (1986)).

Pegylace polypeptidového jádra nebo hybridního polypeptidu může být také ovlivněna tak, aby došlo k navázání v určitém místě nebo aby byl ovlivněn stupeň pegylace. Pegylace pouze části možných pegylačních míst polypeptidového jádra nebo hybridního polypeptidu může být uskutečněna jakýmkoli v oboru známým způsobem. Například stupeň pegylace může být řízen reakčními podmínkami, například úpravou molárního poměru polypeptidu k PEG, trváním reakce nebo teplotou, při které se reakce provádí. Po vyčištění pegylovaného polypeptidu například iontoměničovou chromatografií může být zjištěn stupeň pegylace například analýzou SDS-PAGE. Pegylovaný protein může být uchováván použitím jakéhokoli skladovacího média popsaného v oboru, například při -20 °C v pufru PBS (pH 7,3).

Tyto přístupy mohou být kombinovány pro řízení počtu a umístění pegylačních míst podél polypeptidového jádra nebo hybridního polypeptidu. Pegylace určitého aminokyselinového zbytku může být provedena kombinací metod chemické ochrany a pegylačních reakcí v průběhu syntézy polypeptidových jader, zesilujících polypeptidů nebo hybridních polypeptidů. Použití různých ochranných skupin v kombinaci s navázáním nebo odstraněním ochranných skupin v různých okamžicích při syntéze peptidů umožní směřování jakéhokoli aminokyselinového zbytku nebo zbytků pro pegylaci. Tato technika může být tedy použita pro selektivní modifikaci u jakékoli chemické skupiny, jakékoli části nebo specifického aminokyselinového zbytku v polypeptidovém jádru, zesilujícím polypeptidu nebo hybridním polypeptidu. Například částečně

syntetizovaný oligopeptid může být chemicky chráněn použitím první ochranné skupiny pro zabránění pegylaci aminokyselinových zbytků, které by jinak byly k pegylaci náchylné. Syntéza polypeptidu může být potom dokončena použitím druhé ochranné skupiny, která by také chránila aminokyselinové zbytky, které by jinak byly náchylné k pegylaci. Druhá ochranná skupina by měla být labilnější než první, takže po ukončení syntézy je možno labilní ochrannou skupinu selektivně odstranit, což umožní pegylaci pouze zbytků, ze kterých byly v tomto okamžiku odstraněny ochranné skupiny (Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1981).

V jednom neomezujícím příkladu může být selektivně modifikován kterýkoli z aminokyselinových zbytků T1387 (Ac-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK-NH₂), který je vnímavý k pegylaci (např. zbytky lysinu). Například KLDK může být syntetizován a ϵ -NH₂ skupina lysinových zbytků může být zbavena ochranných skupin a pegylována. Syntéza peptidu by se potom ukončila za získání polypeptidového jádra, ve kterém jsou pegylovány pouze dva ze tří lysinových zbytků.

V dalším neomezujícím příkladu může být modifikován lysinový zbytek, který se nachází na nejvíce N-koncové poloze T1387, syntézou NEYELQKLDK a navázáním méně labilní ochranné skupiny na skupiny ϵ -NH₂ lysinových zbytků. Po ukončení syntézy proteinu, ve kterém je na nejvíce N-koncový lysin na jeho ϵ -NH₂ skupinu navázána labilnější ochranná skupina, se potom N-koncový lysin selektivně zbaví ochranné skupiny a pegluje. Odborníkům v oboru by mělo být zřejmé, že strategie jako je tato mohou být použity pro selektivní modifikaci kteréhokoli cílového aminokyselinového zbytku nebo zbytků uvnitř polypeptidového jádra, zesilujícího polypeptidu nebo hybridního polypeptidu. Tyto ochranné skupiny a jejich vlastnosti mohou být

nalezeny v literatuře, jako je Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, New York, 1981.

K polypeptidovému jádru nebo hybridním polypeptidům mohou být také konjugovány jedna nebo více dalších aminokyselinových sekvencí. Použitá aminokyselinová sekvence může být jakákoli aminokyselinová sekvence, která má dlouhý poločas, nebo jej může mít v kontextu s fúzním proteinem. V jednom provedení je použitý protein lidského původu. Ve výhodném provedení je protein lidský albumin. Odborníkům v oboru je však zřejmé, že s použitím způsobů konjugace popisovaných zde pro albumin mohou být použity další proteiny, jako jsou například imunoglobuliny. Polypeptidové jádro, zesilující polypeptid nebo hybridní polypeptid mohou být například konjugovány se členem této rodiny imunoglobulinů nebo s fragmenty imunoglobulinů. V jednom provedení je polypeptidové jádro, zesilující sekvence nebo hybridní polypeptid fúzován k doméně Fc lidského IgG1.

V dalším provedení je polypeptid modifikován navázáním jak neproteinové polyolové modifikace, tak i modifikace založené na aminokyselinové sekvenci, jako jsou modifikace s použitím jak PEG, tak i albuminu.

Aminokyselinové sekvence mohou být navázány buď na C-konec nebo N-konec polypeptidového jádra, zesilujícího polypeptidu nebo hybridního polypeptidu, nebo mohou být navázány jako postranní řetězce podél polypeptidu. Aminokyselinové sekvence mohou být přidány k polypeptidovému jádru nebo hybridnímu polypeptidu buď v průběhu nebo po syntéze polypeptidu. Alternativně může být konstrukt navržen tak, aby poskytl fúzní protein, ve kterém je rekombinantní aminokyselinová sekvence navázána na polypeptidové jádro a/nebo hybridní polypeptid. Například albumin může být fúzován ke každému z obou konců polypeptidového jádra. V případě potřeby mohou být potom umístěny na volném konci polypeptidového jádra

a/nebo na konci navázaného rekombinantního proteinu zesilující peptidové sekvence. V jednom provedení mohou být aminokyselinové sekvence součástí, nebo mohou sloužit jako propojovací skupina mezi polypeptidovým jádrem a zesilujícími polypeptidy.

- 5 Bylo ukázáno, že modifikace proteinů fúzí s aminokyselinovými sekvencemi jako je albumin podstatně zvyšuje účinnost léčiva, stabilitu, biologickou aktivitu a poločas in vivo, stejně jako žádoucím způsobem snižuje vylučování a toxicitu (Kratz a další, *Arch. Pharm.* (Weinheim) 331: 47 - 53 (1998); Syed a další, *Blood* 89: 3243 - 3252
10 (1997); Makrides a další, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277: 534 - 42 (1996); Breton a další, *Eur. J. Biochem.* 231: 563 - 69 (1995); Paige a další, *Pharm. Res.* 12: 1883 -88 (1995).

- Albumin je vysoce polymorfní, takže bylo identifikováno mnoho jeho variant (Weitkamp a další, *Ann. Hum. Genet.* 37: 219 (1973)).
15 Sekvence albuminu, například sekvence lidského albuminu, jsou odborníkům v oboru dobře známy (viz např. US patent No. 5,876,969, který se zařazuje ve svém celku odkazem). Sekvence albuminu, které mohou být využity pro tyto modifikace proteinů, mohou zahrnovat například pre-pro formy, úplné formy nebo jejich fragmenty (viz např.
20 Kratz a další, *Arch. Pharm.* (Weinheim) 331: 47 - 53 (1998); Syed a další, *Blood* 89: 3243 - 3252 (1997); Makrides a další, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277: 534 - 42 (1996); Breton a další, *Eur. J. Biochem.* 231: 563 - 69 (1995); Paige a další, *Pharm. Res.* 12: 1883 - 88 (1995)). Sekvence albuminu mohou být k polypeptidům podle předkládaného vynálezu přidány chemickou syntézou nebo rekombinantními
25 metodami nebo jejich kombinací.

V jednom neomezujícím příkladu může být fúzován úplný lidský albumin ve čtecím rámci k T1387 (Ac-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK-NH₂) rekombinantními technikami.

- 30 V dalším neomezujícím příkladu může být T1387 (Ac-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK-NH₂), který byl pegylován,

konjugován s redukováným lidským albuminem (dostupný u firmy Sigma Chemical, St. Louis), s použitím v oboru známých technik, jako například Paige a další, *Pharm. Res.* 12: 1883-88 (1995).

5 Modifikované polypeptidy mohou být testovány na biologickou aktivitu, například antivirovou aktivitu, použitím standardních technik. Rutinně je také možno zjišťovat další takové vlastnosti, jako jsou například farmakokinetické nebo imunogenní vlastnosti modifikovaných polypeptidů. Modifikované polypeptidy mohou být také
10 testovány in vitro a in vivo pro zjištění změn biologické odpovědi v důsledku modifikace nebo modifikací.

Tabulka 2

T		
No.	Sekvence	
	1	GIKQLQARILAVERYLKDQ
5	2	NNLLRAIEAQQHLLQLTVW
	3	NEQELLELDKWASLWNWF
	4	YTSLIHSLIEESQNQQEK
	5	Ac-VWGIKQLQARILAVERYLKDQQLLGIWG-NH ₂
	6	QHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ
10	7	LRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAV
	8	VQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQL
	9	RQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLT
	10	MTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQ
	12	WSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLL
15	13	LLSTNKAVVSLSGVSVLTSKVLDLKNY
	15	Ac-VLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNG-NH ₂
	19	Ac-LLSTNKAVVSLSGVSVLTSKVLDLKNY-NH ₂
	20	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	21	Ac-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
20	22	Ac-IELSNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQST-NH ₂
	23	Ac-IELSNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKY-NH ₂
	24	Ac-ENKCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTEL-NH ₂
	25	Ac-DAKVLIKQELDKYKNAVTELQLLMQST-NH ₂
	26	Ac-CNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLL-NH ₂
25	27	Ac-SNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKYKNAVTELQLL-NH ₂
	28	Ac-ASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGV-NH ₂
	29	Ac-SGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNG-NH ₂
	30	Ac-VLHLEGEVNKIKSALLSTHKAVVSLSGVSVLTSK-NH ₂
	31	Ac-ARKLQRMKQLEDKVEELLSKNYHYLENEVARLKKLV-NH ₂
30	32	Ac-RMKQLEDKVEELLSKNYHYLENEVARLKKLVGER-NH ₂
	33	Ac-VQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQL-NH ₂
	34	Ac-LRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAV-NH ₂
	35	Ac-QHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
	36	Ac-RQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLT-NH ₂
35	37	Ac-MTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQ-NH ₂
	38	Ac-AKQARSDIEKLKEAIRD TNKAVQSVQSS-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	39	Ac-AAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSS-NH ₂
	40	Ac-AKQARSDIEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVA-NH ₂
5	41	Ac-GTIALGVATSAQITA AVALVEAKQARSD-NH ₂
	42	Ac-ATSAQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEA-NH ₂
	43	Ac-AAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRDTNKA-NH ₂
	44	Ac-IEKLKEAIRDTNKAVQSVQSSIGNLIVA-NH ₂
	45	Ac-IRDTNKAVQSVQSSIGNLIVAIKSVOQY-NH ₂
10	46	Ac-AVQSVQSSIGNLIVAIKSVQDYVNKEIV-NH ₂
	47	Ac-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLARILA -VERYLKDQ-NH ₂
	48	Ac-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQ-NH ₂
	49	Ac-MTWEMDREINNYTSLIGSLIEESQNQQEKNEQEELLELDK -WASLWNWF-NH ₂
15	50	Ac-WMEWDREINNYTSLIGSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂
	51	Ac-INNYTSLIGSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂
	52	Ac-INNYTSLIGSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASL-NH ₂
	53	Ac-EWDREINNYTSLIGSLIEESQNQQEKNEQEGGC-NH ₂
20	54	Ac-QSRTLLAGIVQQQQQLLDWKRQQELLR-NH ₂
	55	Ac-NNDTWQEWERKVD FLEENITALLEEAIQQEKKNMYELQKLNSWD-NH ₂
	56	Ac-WQEWERKVD FLEENITALLEEAIQQEK-NH ₂
	57	Ac-VDFLEENITALLEEAIQQEKKNMYELQK-NH ₂
	58	Ac-ITALLEEAIQQEKKNMYELQKLNSWDVF-NH ₂
25	59	Ac-SSESFTLLEQWNNWKLQLAEQWLEQINEKHYLEDIS-NH ₂
	60	Ac-DKWASLWNWF-NH ₂
	61	Ac-NEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	62	Ac-EKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	63	Ac-NQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
30	64	Ac-ESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	65	Ac-LIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	66	Ac-NDQKKLMSNNVQIVRQQSYSIMSIIKEE-NH ₂
	67	Ac-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	68	Ac-VSKGYSALRTGWYTSVITIELSNIKEN-NH ₂
35	69	Ac-WSLSNGVSVLT SKVLDLKNYIDKQLL-NH ₂
	70	Ac-VNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT SK-NH ₂
	71	Ac-PIINFYDPLVFPSEFDASISQVNEKINQSLAFIR-NH ₂

12.03.02

T		
No.	Sekvence	
72	Ac-NLVYAQLQFTYDTRLRGYINRALAQIAEA-NH ₂	
73	Ac-LNQVDLTETLERYQQRNLNTYALVSKDASYRS-NH ₂	
5 74	Ac-ELLVLKKAQLNRHSYKDSDFLDAALD-NH ₂	
75	Ac-LAEAGEESVTEDTEREDTEEEREDEEEE-NH ₂	
76	Ac-ALLAEAGEESVTEDTEREDTEEEREDEEEEENEART-NH ₂	
77	Ac-ETERSVDLVAALLAEAGEESVTEDTEREDTEEERE-NH ₂	
78	Ac-EESVTEDTEREDTEEEREDEEEEENEART-NH ₂	
10 79	Ac-VDLVAALLAEAGEESVTEDTEREDTEEE-NH ₂	
80	Ac-NSETERSVDLVAALLAEAGEESVTE-NH ₂	
81	Ac-DISYAQLQFTYDVLKDYINDALRNIMDA-NH ₂	
82	Ac-SNVFSKDEIMREYNSQKQHIRTLSAKVNDN-NH ₂	
83	Biotin-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂	
15 84	Dig-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂	
85	Biotin-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂	
86	Dig-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂	
87	Ac-VLHQLNIQLKQYLETQERLLAGNRARIAARQLLQIWKDVA-NH ₂	
88	Ac-LWHEQLLNTAORAGLQLQLINQALAVREKVLIRYDIQK-NH ₂	
20 89	Ac-LLDNFESTWEQSKELWEQQEISIQNLHKSALQEYW-NH ₂	
90	Ac-LSNLLQISNNSDEWLEALEIEHEKWKLQWQSYEQF-NH ₂	
91	Ac-KLEALEGKLEALEGKLEALEGKLEALEGKLEALEGK-NH ₂	
92	Ac-ELRALRGELRALRGELRALRGELRALRGK-NH ₂	
93	Ac-ELKAKELEGEGLAEEGEEALKGLLEKAAKLEGLELLK-NH ₂	
25 94	Ac-WEAAAREAAAAREAAAAREAAAARA-NH ₂	
95	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNAF-NH ₂	
96	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLANWF-NH ₂	
97	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂	
98	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLQLDKWASLWNWF-NH ₂	
30 99	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLQLDKWASLWNWF-NH ₂	
100	Ac-RMKQLEDKVEELSKNYHLENEVARLKKLVGER-NH ₂	
101	Ac-QQLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKNQ-NH ₂	
102	Ac-NEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂	
103	Ac-YTSLIQSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂	
35 104	Ac-IINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRK-NH ₂	
105	Ac-INFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKS-NH ₂	
106	Ac-NFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSD-NH ₂	
107	Ac-FYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDE-NH ₂	

12.03.02

T		
No.	Sekvence	
108	Ac-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL-NH ₂	
109	Ac-DPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂	
5	110	Ac-PLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLH-NH ₂
111	Ac-LVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHN-NH ₂	
112	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂	
113	Ac-FPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVN-NH ₂	
114	Ac-PSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNA-NH ₂	
10	115	Ac-SDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAG-NH ₂
116	Ac-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH ₂	
117	Ac-EFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKS-NH ₂	
118	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂	
119	Ac-DASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKSTT-NH ₂	
15	120	Ac-ASGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAWSLSN-NH ₂
121	Ac-SGVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNG-NH ₂	
122	Ac-GVAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAWSLSNGV-NH ₂	
123	Ac-VAVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAWSLSNGVS-NH ₂	
124	Ac-AVSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAWSLSNGVSV-NH ₂	
20	125	Ac-VSKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAWSLSNGVSVL-NH ₂
126	Ac-SKVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLT-NH ₂	
127	Ac-KVLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTS-NH ₂	
128	Ac-VLHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTK-NH ₂	
129	Ac-LHLEGEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKV-NH ₂	
25	130	Ac-HLEGEVNKIKSALLSTNKAWSLSNGVSVLTSTKVL-NH ₂
131	Ac-LEGEVNKIKSALLSTNKAWSLSNGVSVLTSTKVLD-NH ₂	
132	Ac-EGEVNKIKSALLSTNKAWSLSNGVSVLTSTKVLDL-NH ₂	
133	Ac-GEVNKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLK-NH ₂	
134	Ac-EVNKIKSALLSTNKAWSLSNGVSVLTSTKVLDLKN-NH ₂	
30	135	Ac-VNKIKSALLSTNKAWSLSNGVSVLTSTKVLDLKNY-NH ₂
136	Ac-NKIKSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYI-NH ₂	
137	Ac-KIKSALLSTNKAWSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYID-NH ₂	
138	Ac-IKSALLSTNKAWSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDK-NH ₂	
139	Ac-KSALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQ-NH ₂	
35	140	Ac-SALLSTNKAVVSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQL-NH ₂
141	Ac-ALLSTNKAWSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLL-NH ₂	
142	Ac-YTSVITIELSNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKYK-NH ₂	
143	Ac-TSVITIELSNIKENKCNGTDAKVLIKQELDKYKN-NH ₂	

12.03.02

T		No.	Sekvence
		144	Ac-SVITIELSNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNA-NH ₂
		145	Ac-VITIELSNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAV-NH ₂
5		146	Ac-ITIELSNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAV-T-NH ₂
		147	Ac-TIELSNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTE-NH ₂
		148	Ac-IELSNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTEL-NH ₂
		149	Ac-ELSNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQ-NH ₂
		150	Ac-LSNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQL-NH ₂
10		151	Ac-SNIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLL-NH ₂
		152	Ac-NIKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLM-NH ₂
		153	Ac-IKENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQ-NH ₂
		154	Ac-KENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQS-NH ₂
		155	Ac-ENKCNNGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQST-NH ₂
15		156	Ac-LLDNFESTWEQSKELWELQEISIQNLHKSALQEYWN-NH ₂
		157	Ac-ALGVATSAQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-NH ₂
		158	Ac-LGVATSAQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-T-NH ₂
		159	Ac-GVATSAQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TN-NH ₂
		160	Ac-VATSAQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNK-NH ₂
20		161	Ac-ATSAQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKA-NH ₂
		162	Ac-TSAQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAV-NH ₂
		163	Ac-SAQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQ-NH ₂
		164	Ac-AQITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQS-NH ₂
		165	Ac-QITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSV-NH ₂
25		166	Ac-ITA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQ-NH ₂
		167	Ac-TA AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQS-NH ₂
		168	Ac-AAVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSS-NH ₂
		169	Ac-AVALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSI-NH ₂
		170	Ac-VALVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIG-NH ₂
30		171	Ac-ALVEAKQARSDIEKL AIRD-TNKAVQSVQSSIGN-NH ₂
		172	Ac-LVEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIGNL-NH ₂
		173	Ac-VEAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIGNLI-NH ₂
		174	Ac-EAKQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIGNLIV-NH ₂
		175	Ac-KQARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIGNLIVAI-NH ₂
35		176	Ac-QARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIGNLIVAIK-NH ₂
		177	Ac-ARSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIGNLIVAIKS-NH ₂
		178	Ac-RSDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIGNLIVAIKSV-NH ₂
		179	Ac-SDIEKLKEAIRD-TNKAVQSVQSSIGNLIVAIKSVQ-NH ₂

12.03.02

T		No.	Sekvence
		180	Ac-DIEKLKEAIRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQD-NH ₂
		181	Ac-IEKLKEAIRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQDY-NH ₂
5		182	Ac-EKLKEAIRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQDYV-NH ₂
		183	Ac-KLKEAIRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQDYVN-NH ₂
		184	Ac-LKEAIRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQDYV NK-NH ₂
		185	Ac-KEAIRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQDYVNKE-NH ₂
		186	Ac-EAIRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQDYVNKEI-NH ₂
10		187	Ac-AIRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQDYVNKEIV-NH ₂
		188	Ac-IRD TNKAVQSVQSSIGNLIVA I KSVQDYVNKEIV-NH ₂
		189	Ac-YTPNDITL NNSVALDPIDISIELNKARS DLEESKE-NH ₂
		190	Ac-TPNDITL NNSVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEW-NH ₂
		191	Ac-PNDITL NNSVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWI-NH ₂
15		192	Ac-NDITL NNSVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIR-NH ₂
		193	Ac-DITL NNSVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRR-NH ₂
		194	Ac-ITL NNSVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRS-NH ₂
		195	Ac-TL NNSVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSN-NH ₂
		196	Ac-LN NNSVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQ-NH ₂
20		197	Ac-NN SVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQK-NH ₂
		198	Ac-NSVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKL-NH ₂
		200	Ac-SVALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLD-NH ₂
		201	Ac-VALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDS-NH ₂
		202	Ac-ALDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSI-NH ₂
25		203	Ac-LDPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIG-NH ₂
		204	Ac-DPIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIGN-NH ₂
		205	Ac-PIDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIGNW-NH ₂
		206	Ac-IDISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWH-NH ₂
		207	Ac-DISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQ-NH ₂
30		208	Ac-ISIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQS-NH ₂
		209	Ac-SIELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSS-NH ₂
		210	Ac-IELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSST-NH ₂
		211	Ac-ELNKAKS DLEESKEWIRRSNQKLDSIGNWHQSSTT-NH ₂
		212	Ac-ELRALRGELRALRGELRALRGELRALRGELRALRGK-NH ₂
35		213	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQQKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
		214	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELNKWASLWNWF-NH ₂
		215	Ac-YTSLIHSLIEQSQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
		216	Ac-YTSLIHSLIQESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂

12.03.00

T	No.	Sekvence
	217	Ac-YTSLIHSLIQSQSQNQKQKQQLLQLNKWASLWNWF-NH ₂
	218	Ac-EQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
5	219	Ac-QELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	220	Ac-ELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	221	Ac-LELDKWASLWNWF-NH ₂
	222	Ac-ELDKWASLWNWF-NH ₂
	226	Ac-WASLWNWF-NH ₂
10	227	Ac-ASLWNWF-NH ₂
	229	Ac-YTSLIHSLIEESQSQKNEQELLELDKWASLANAA-NH ₂
	230	Ac-YTSLIHSLIEESQSQKNEQQLLELDKWASLWNWF-NH ₂
	231	Ac-YTSLIQSLIEESQSQKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	234	Ac-EAAAREAAAAREAAARLELDKWASLWNWF-NH ₂
15	236	Ac-PSLRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYG-NH ₂
	237	Ac-SLRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYG-NH ₂
	238	Ac-LRDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYG-NH ₂
	239	Ac-RDPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDL-NH ₂
	240	Ac-DPISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDL-NH ₂
20	241	Ac-PISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLG-NH ₂
	242	Ac-ISAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLI-NH ₂
	243	Ac-SAEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLIL-NH ₂
	244	Ac-AEISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLILE-NH ₂
	245	Ac-EISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLILES-NH ₂
25	246	Ac-ISIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLILES-NH ₂
	247	Ac-SIQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLILES-RG-NH ₂
	248	Ac-IQALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLILES-RGI-NH ₂
	249	Ac-QALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLILES-RGIK-NH ₂
	250	Ac-ALSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLILES-RGIKA-NH ₂
30	251	Ac-LSYALGGDINKVLEKLGYSYGDLGLILES-RGIKAR-NH ₂
	252	Ac-PDAVYLHRIDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLED-NH ₂
	253	Ac-DAVYLHRIDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDA-NH ₂
	254	Ac-AVYLHRIDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAK-NH ₂
	255	Ac-VYLHRIDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKE-NH ₂
35	256	Ac-YLHRIDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKEL-NH ₂
	257	Ac-LHRIDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELL-NH ₂
	258	Ac-HRIDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLE-NH ₂
	259	Ac-RIDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLES-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	260	Ac-IDLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESS-NH ₂
	261	Ac-DLGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESSD-NH ₂
5	262	Ac-LGPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESSDQ-NH ₂
	263	Ac-GPPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESSDQI-NH ₂
	264	Ac-PPISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESSDQIL-NH ₂
	265	Ac-PISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESSDQILR-NH ₂
	266	Ac-ISLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESSDQIRS-NH ₂
10	267	Ac-SLERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESSDQILRSM-NH ₂
	268	Ac-LERLDVGTNLGNIAIAKLEDAKELLESSDQILRSMK-NH ₂
	269	Ac-EWIRRSNQKLDSI-NH ₂
	270	Ac-LELDKWASLANAF-NH ₂
	271	Ac-LELDKWASLFNFF-NH ₂
15	272	Ac-LELDKWASLANWF-NH ₂
	273	Ac-LELDKWASLWNAF-NH ₂
	274	Ac-ELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN VKLTSTSA-NH ₂
	275	Ac-TELG NVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN VKLTSTS-NH ₂
	276	Ac-STELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN VKLTST-NH ₂
20	277	Ac-ISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN VKLTS-NH ₂
	278	Ac-DISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN VKLT-NH ₂
	279	Ac-LDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN VKL-NH ₂
	280	Ac-NLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN VK-NH ₂
	281	Ac-GNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN V-NH ₂
25	282	Ac-TGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKVN-NH ₂
	283	Ac-VTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDKV-NH ₂
	284	Ac-IVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLDK-NH ₂
	285	Ac-VIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKLD-NH ₂
	286	Ac-QVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSKL-NH ₂
30	287	Ac-SQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNSK-NH ₂
	288	Ac-DSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESNS-NH ₂
	289	Ac-LDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEESN-NH ₂
	290	Ac-ILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEES-NH ₂
	291	Ac-SILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLEE-NH ₂
35	292	Ac-ISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKLE-NH ₂
	293	Ac-NISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDKL-NH ₂
	294	Ac-KNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALDK-NH ₂
	295	Ac-QKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNALD-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sequence
	296	Ac-YQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNAL-NH ₂
	297	Ac-TYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISNA-NH ₂
5	298	Ac-ATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSISN-NH ₂
	299	Ac-DATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSIS-NH ₂
	300	Ac-FDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNSI-NH ₂
	301	Ac-EFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNNS-NH ₂
	302	Ac-GEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVNN-NH ₂
10	303	Ac-SGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNVN-NH ₂
	304	Ac-LSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGNV-NH ₂
	305	Ac-RLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELGN-NH ₂
	306	Ac-LRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTELG-NH ₂
	307	Ac-TLRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTEL-NH ₂
15	308	Ac-ITLRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDISTE-NH ₂
	309	Ac-GITLRLSGEFDATYQKNISILDSQVIVTGNLDIST-NH ₂
	310	Ac-TATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVNDQFNNT-NH ₂
	311	Ac-ITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVNDQFNN-NH ₂
	312	Ac-SITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVNDQFN-NH ₂
20	314	Ac-KESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVNDQ-NH ₂
	315	Ac-LKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVND-NH ₂
	316	Ac-RLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFVN-NH ₂
	317	Ac-LRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQFV-NH ₂
	318	Ac-ILRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQF-NH ₂
25	319	Ac-NILRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQQ-NH ₂
	320	Ac-ANILRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKMQ-NH ₂
	321	Ac-AANILRLKESITATIEAVHEVTDGLSQLAVAVGKM-NH ₂
	322	Ac-HKCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGV-NH ₂
	323	Ac-KCDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVK-NH ₂
30	324	Ac-CDDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKL-NH ₂
	325	Ac-DDECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKLS-NH ₂
	326	Ac-DECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKLSS-NH ₂
	327	Ac-ECMNSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKLSSM-NH ₂
	328	Ac-CMNSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKLSSMG-NH ₂
35	329	Ac-MNSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKLSSMGV-NH ₂
	330	Ac-NSVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKLSSMGVY-NH ₂
	331	Ac-SVKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKLSSMGVYQ-NH ₂
	332	Ac-VKNGTYDYPKYEEESKLRNEIKGVKLSSMGVYQI-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	333	Ac-KNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKLSSMGVYQIL-NH ₂
	334	Ac-AFIRKSDELLHNV-NH ₂
5	335	Ac-WLAGAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNL-NH ₂
	336	Ac-VLAGAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLR-NH ₂
	337	Ac-LAGAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRA-NH ₂
	338	Ac-AGAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRAS-NH ₂
	339	Ac-GAALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASL-NH ₂
10	340	Ac-AALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLE-NH ₂
	341	Ac-ALGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLET-NH ₂
	342	Ac-LGVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETT-NH ₂
	343	Ac-GVATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTN-NH ₂
	344	Ac-VATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQ-NH ₂
15	345	Ac-ATAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-NH ₂
	346	Ac-TAAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-NH ₂
	347	Ac-AAQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-E-NH ₂
	348	Ac-AQITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EA-NH ₂
	349	Ac-QITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAI-NH ₂
20	350	Ac-ITAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIR-NH ₂
	351	Ac-TAGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQ-NH ₂
	352	Ac-AGIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQA-NH ₂
	353	Ac-GIALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAG-NH ₂
	354	Ac-IALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQ-NH ₂
25	355	Ac-ALHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQE-NH ₂
	356	Ac-LHQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEM-NH ₂
	357	Ac-HQSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMI-NH ₂
	358	Ac-QSMNLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMIL-NH ₂
	359	Ac-SMLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILA-NH ₂
30	360	Ac-MLNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAV-NH ₂
	361	Ac-LNSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAVQ-NH ₂
	362	Ac-NSQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAVQG-NH ₂
	363	Ac-SQAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAVQGV-NH ₂
	364	Ac-QAIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAVQGVQ-NH ₂
35	365	Ac-AIDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAVQGVQD-NH ₂
	366	Ac-IDNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAVQGVQDY-NH ₂
	367	Ac-DNLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAVQGVQDYI-NH ₂
	368	Ac-NLRASLETTNQAI-EAIRQAGQEMILAVQGVQDYIN-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	369	Ac-LRASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQGVQDYINN-NH ₂
	370	Ac-RASLETTNQAIEAIRQAGQEMILAVQGVQDYINNE-NH ₂
5	371	Ac-YTSVITIELSNIKENKUNGTDVAVKLIKQELDKYK-NH ₂
	372	Ac-TSVITIELSNIKENKUNGTDVAVKLIKQELDKYKN-NH ₂
	373	Ac-SVITIELSNIKENKUNGTDVAVKLIKQELDKYKNA-NH ₂
	374	Ac-SNIKENKUNGTDVAVKLIKQELDKYKNAVTELQLL-NH ₂
	375	Ac-KENKUNGTDVAVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQS-NH ₂
10	376	Ac-CLELDKWASLWNWFC-NH ₂
	377	Ac-CLELDKWASLANWFC-NH ₂
	378	Ac-CLELDKWASLFNFFC-NH ₂
	379	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLFNFF-NH ₂
	381	Ac-RMKQLEDKVEELLSKNYHLENELELDKWASLWNWF-NH ₂
15	382	Ac-KVEELLSKNYHLENELELDKWASLWNWF-NH ₂
	383	Ac-RMKQLEDKVEELLSKLEWIRRSNQKLD SI-NH ₂
	384	Ac-RMKQLEDKVEELLSKLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	385	Ac-ELEALRGELRALRGELELDKWASLWNWF-NH ₂
	386	Ac-LDPIDISIELNKA KSDLEESKEWIRRSNQKLD SI-NH ₂
20	387	Ac-CNEQLSDSFPVEFFQV-NH ₂
	388	Ac-MAEDDPYLGRPEQMFDPSL-NH ₂
	389	Ac-EDFSSIADMDFSALLSQISS-NH ₂
	390	Ac-TWQEWERKVD FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQ-NH ₂
	391	Ac-WQEWERKVD FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQK-NH ₂
25	392	Ac-QEWERKVE FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKL-NH ₂
	393	Ac-EWERKVD FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLN-NH ₂
	394	Ac-WERKVD FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNS-NH ₂
	395	Ac-ERKVD FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNSW-NH ₂
	396	Ac-RKVD FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNSWD-NH ₂
30	397	Ac-KVD FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNSWDV-NH ₂
	398	Ac-VD FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNSWDVF-NH ₂
	399	Ac-D FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNSWDVFG-NH ₂
	400	Ac-FLEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNSWDVFGN-NH ₂
	401	Ac-LEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNSWDVFGNW-NH ₂
35	402	Ac-LEENITALLEEAQIQQEK NMYELQKLNSWDVFGNWF-NH ₂
	403	Ac-NEQSEEKENELYWAKEQLLDLLFNIFNQTVGAWIMQ-NH ₂
	405	Ac-QQQLLDWKRQQELLRLTVWG TKNLQTRVTAIEKYLKD-NH ₂
	406	Ac-QQQLLDWKRQQELLRLTVWG TKNLQTRVTAIEKYLKDQ-NH ₂

12.03.00

T		
No.	Sekvence	
407	Ac-QQLLDWKRQQELLRLTVWGPKNLQTRVTAIEKYLDQ-NH ₂	
408	Ac-DERKQDKVLWQQTGTLQLTLIQLEKTAKLQWVRLNRY-NH ₂	
5 409	Ac-QQQLLDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKY-NH ₂	
410	Ac-QQLLDWKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLD-NH ₂	
411	Ac-QLLDWKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLD-NH ₂	
412	Ac-LLDVVKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLD-NH ₂	
413	Ac-LDWKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQ-NH ₂	
10 414	Ac-DWKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQA-NH ₂	
415	Ac-WKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQAQ-NH ₂	
416	Ac-VKRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQAQL-NH ₂	
417	Ac-KRQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQAQLN-NH ₂	
418	Ac-RQQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQAQLNA-NH ₂	
15 419	Ac-QQELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQAQLNAW-NH ₂	
420	Ac-QELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQAQLNAWG-NH ₂	
421	Ac-ELLRLTVWGTKNLQTRVTAIEKYLDQAQLNAQGC-NH ₂	
422	Ac-NNLLRAIEAQHLLQLTVWGPQLQARILAVERYLDQ-NH ₂	
423	Ac-SELEIKRYKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAK-NH ₂	
20 424	Ac-ELEIKRYKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKS-NH ₂	
425	Ac-LEIKRYKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSS-NH ₂	
426	Ac-EIKRYKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSE-NH ₂	
427	Ac-IKRYKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSEN-NH ₂	
428	Ac-KRYKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSEND-NH ₂	
25 429	Ac-RYKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDNR-NH ₂	
430	Ac-YKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRL-NH ₂	
431	Ac-KNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLR-NH ₂	
432	Ac-NRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRL-NH ₂	
433	Ac-RVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLL-NH ₂	
30 434	Ac-VASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLL-NH ₂	
435	Ac-ASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLK-NH ₂	
436	Ac-SRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQ-NH ₂	
437	Ac-RKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQM-NH ₂	
438	Ac-KCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMC-NH ₂	
35 439	Ac-CRKFQQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCP-NH ₂	
440	Ac-RAKFQQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCP-S-NH ₂	
441	Ac-AKFQQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCP-SL-NH ₂	
442	Ac-KFKQQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCP-SLD-NH ₂	

T	No.	Sequence
	443	Ac-FKQLLQHYREVAAADSSSENDRLRLLLQMCPSLDV-NH ₂
	444	Ac-KQLLQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVD-NH ₂
5	445	Ac-QLLQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDS-NH ₂
	446	Ac-LLQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSI-NH ₂
	447	Ac-LQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSII-NH ₂
	448	Ac-QHYREVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIP-NH ₂
	449	Ac-HYREVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPR-NH ₂
10	450	Ac-YREVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRT-NH ₂
	451	Ac-REVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTP-NH ₂
	452	Ac-EVAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPD-NH ₂
	453	Ac-VAAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDV-NH ₂
	454	Ac-AAAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDVL-NH ₂
15	455	Ac-AAKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDVLH-NH ₂
	456	Ac-AKSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHE-NH ₂
	457	Ac-KSSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHED-NH ₂
	458	Ac-SSSENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDL-NH ₂
	459	Ac-SENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLL-NH ₂
20	460	Ac-ENDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLLN-NH ₂
	461	Ac-NDRLRLLLQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLLNF-NH ₂
	534	Ac-PGYRWMCLRRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGML-NH ₂
	535	Ac-GYRWMCLRRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLP-NH ₂
	536	Ac-YRWMCLRRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPV-NH ₂
25	537	Ac-RWMCLRRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVC-NH ₂
	538	Ac-WMCLRRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCP-NH ₂
	539	Ac-MCLRRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPL-NH ₂
	540	Ac-CLRRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLI-NH ₂
	541	Ac-LRRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIP-NH ₂
30	542	Ac-RRFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPG-NH ₂
	543	Ac-RFIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGS-NH ₂
	544	Ac-FIIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSS-NH ₂
	545	Ac-IIIFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSST-NH ₂
	546	Ac-IFLIFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTT-NH ₂
35	547	Ac-FLFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTS-NH ₂
	548	Ac-LFILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTST-NH ₂
	549	Ac-FILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTG-NH ₂
	550	Ac-ILLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGP-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	551	Ac-LLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPC-NH ₂
	552	Ac-LLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCR-NH ₂
5	553	Ac-LCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRT-NH ₂
	554	Ac-CLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTC-NH ₂
	555	Ac-LIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCMT-NH ₂
	556	Ac-IFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCMT-NH ₂
	557	Ac-FLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCMTT-NH ₂
10	558	Ac-PPLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT-NH ₂
	559	Ac-LLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTT-NH ₂
	560	Ac-LVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTV-NH ₂
	561	Ac-VLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVC-NH ₂
	562	Ac-LQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCL-NH ₂
15	563	Ac-QAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLG-NH ₂
	564	Ac-AGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQ-NH ₂
	565	Ac-GFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQN-NH ₂
	566	Ac-FLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNS-NH ₂
	567	Ac-FLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQ-NH ₂
20	568	Ac-LLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQS-NH ₂
	569	Ac-LTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQSP-NH ₂
	570	Ac-FWNWLSAWKDLELKSLLKEVKDELQKMR-NH ₂
	571	Ac-NNLLRAIEAQQHLLQLTVW-NH ₂
	572	Ac-CGGNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
25	573	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	574	C ₁₃ H ₂₇ CO-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	575	Ac-AVSKGYLSALRTGWYTSVITIELSNIKENKUNGTD-NH ₂
	576	Ac-SISNIETVIEFQQKNNRLLLEITREFSVNAGVTTPVS-NH ₂
	577	Ac-DQQIKQYKRLLDRLIIPLYDGLRQKDVIVSNQESN-NH ₂
30	578	Ac-YSELTNIFGDNIGSLQEKGIKLQGIASLYRTNITEI-NH ₂
	579	Ac-TSITLQVRLPLLTRLLNTQIYRVDSISYNIQNREWY-NH ₂
	580	Ac-VEIAEYRLLRTVLEPIRDALNAMTQNIRPVQSV-NH ₂
	581	Ac-SYFIVLSIAYPTLSEIKGVIVHRLEGVSYNIGSQEW-NH ₂
	582	Ac-LKEAIRDITNKAVQSVQSSIGNLIVAIKS-NH ₂
35	583	NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
	583	NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
	584	QKQEPIDKELYPLTSL
	585	YPKFVKQNTLKLAT

12.03.02

T		
No.	Sekvence	
586	QYIKANQKFIGITE	
587	NGQIGNDPNRDILY	
5 588	Ac-RPDVY-OH	
589	CLELDKWASLWNWFC- (cyklický)	
590	CLELDKWASLANWFC- (cyklický)	
591	CLELDKWASLANFFC- (cyklický)	
594	Ac-NNLLRAIEAQQQHLLQLTVWGKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂	
10 595	Ac-CGGYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNNWF-NH ₂	
596	Ac-PLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT-NH ₂	
597	Ac-LLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTT-NH ₂	
598	Ac-LVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTV-NH ₂	
599	Ac-VLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVC-NH ₂	
15 600	Ac-LQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCL-NH ₂	
601	Ac-QAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLG-NH ₂	
602	Ac-AGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQ-NH ₂	
603	Ac-GFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQN-NH ₂	
604	Ac-FLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNS-NH ₂	
20 605	Ac-FLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQ-NH ₂	
606	Ac-LLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQS-NH ₂	
607	Ac-LTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQSP-NH ₂	
608	Ac-LELDKWASLWNWA-NH ₂	
609	Ac-LELDKWASAWNWF-NH ₂	
25 610	Ac-LELDKAASLWNWF-NH ₂	
611	Ac-LKLDKWASLWNWF-NH ₂	
612	Ac-LELKKWASLWNWF-NH ₂	
613	Ac-DELLHNVNAGKST-NH ₂	
614	Ac-KSDELLHNVNAGKST-NH ₂	
30 615	Ac-IRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂	
616	Ac-AFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂	
617	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFI-NH ₂	
618	Ac-YAADKESTQKAFDGITKNVNSVIEKMNTQFEAVGKE-NH ₂	
619	Ac-SVIEKMNTQFEAVGKEFGNLERRLENLNKRMEDGFL-NH ₂	
35 620	Ac-VWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRMQL-NH ₂	
621	Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEGGC-NH ₂	
622	Ac-INNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASL-NH ₂	
623	Ac-INNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂	

12.03.02

T		
No.	Sekvence	
624	Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂	
625	Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE	
5	-LDKWASLWNWF-NH ₂	
626	Ac-IDISIELNKAQSDLEESKEWIKKSNQKLD SIGNWH-NH ₂	
627	Ac-NQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIKIFI-NH ₂	
627	Ac-NQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIKIFI-NH ₂	
628	Ac-QNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIKIF-NH ₂	
10	629 Ac-SQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIKI-NH ₂	
630	Ac-ESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWLWYIK-NH ₂	
631	Ac-EESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWLWYI-NH ₂	
632	Ac-IEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWLWY-NH ₂	
633	Ac-LIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWLW-NH ₂	
15	634 Ac-SLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNWL-NH ₂	
635	Ac-HSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITNW-NH ₂	
636	Ac-IHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNITN-NH ₂	
637	Ac-LIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNIT-NH ₂	
638	Ac-SLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFNI-NH ₂	
20	639 Ac-TSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWFN-NH ₂	
640	Ac-NYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNW-NH ₂	
641	Ac-NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWN-NH ₂	
642	Ac-INNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLW-NH ₂	
643	Ac-EINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASL-NH ₂	
25	644 Ac-REINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWAS-NH ₂	
645	Ac-DREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWA-NH ₂	
646	Ac-WDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKW-NH ₂	
647	Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDK-NH ₂	
648	Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELD-NH	
30	649 Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂	
650	Ac-TWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂	
651	Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELL-NH ₂	
652	Ac-NMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEEL-NH ₂	
653	Ac-NNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQE-NH ₂	
35	654 Ac-WNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQ-NH ₂	
655	Ac-IWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNE-NH ₂	
656	Ac-QIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKN-NH ₂	
657	Ac-EQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEK-NH ₂	

12.03.02

T	No.	Sekvence
	658	Ac-LEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQE-NH ₂
	659	Ac-SLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQ-NH ₂
5	660	Ac-KSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQ-NH ₂
	661	Ac-NKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQN-NH ₂
	662	Ac-SLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	663	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRK-NH ₂
	664	Ac-YTSLIHSLIEESQQQKEKQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
10	665	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH ₂
	666	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNA-NH ₂
	667	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	668	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLH-NH ₂
	669	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL-NH ₂
15	670	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSD-NH ₂
	671	Ac-ASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	672	Ac-ISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	673	Ac-QVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	674	Ac-NEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
20	675	Ac-KINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	676	Ac-NQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	677	Ac-FWNWLSAWKDLELYPGSLELDKWASLWNWF-NH ₂
	678	Ac-CGGNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
	679	Ac-CGGYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
25	680	YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF
	681	NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ
	682	Ac-EKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYIQYGV-NH ₂
	683	Ac-QEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYIQY-NH ₂
	684	Ac-QQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYIQY-NH ₂
30	685	Ac-IQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYIQ-NH ₂
	686	Ac-QIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQYI-NH ₂
	687	Ac-AQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQY-NH ₂
	688	Ac-QAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYIQ-NH ₂
	689	Ac-EQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRYI-NH ₂
35	690	Ac-LEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVRY-NH ₂
	691	Ac-SLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWVR-NH ₂
	692	Ac-QSLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSWV-NH ₂
	693	Ac-SQSLEQAQIQQEKNMYELQKLNSWDVFTNWLDFTSW-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	694	Ac-ISQSLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWLDFTS-NH ₂
	695	Ac-NISQSLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWLDFT-NH ₂
5	696	Ac-ANISQSLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWLD-NH ₂
	697	Ac-EANISQSLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWLD-NH ₂
	699	Ac-YLEANISQSLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNW-NH ₂
	700	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEL-NH ₂
	701	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
10	702	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKLEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	703	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEFDKWASLWNWF-NH ₂
	704	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKPASLWNWF-NH ₂
	705	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASPWNWF-NH ₂
	706	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNSF-NH ₂
15	707	Biotin NH(CH ₂) ₄ CO-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLE -LDKWASLWNWF-NH ₂
	708	Biotin NH(CH ₂) ₆ CO-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLE -LDKWASLWNWF-NH ₂
	709	FMOC-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF
20	710	FMOC-NNLLRAIEAQHLLQLTVWGIKQLQARILAVEYLKDO
	711	Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQE-NH ₂
	712	Ac-LIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	713	Ac-FWNWLSAWKDLELGGPGSGPGGLELDKWASLWNWF-NH ₂
	714	Ac-LIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASL-NH ₂
25	715	Ac-TSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	716	Ac-LIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	718	FMOC-GGGGGYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	719	Ac-HSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	720	Ac-YTSLIYSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
30	721	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	722	Ac-YTSLIHSSIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	723	Ac-LEANISQLLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWL-NH ₂
	724	Ac-SLEECDSELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYR-NH ₂
	725	Ac-LEECDSELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYRE-NH ₂
35	726	Ac-EECDSELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREV-NH ₂
	727	Ac-ECDSELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVA-NH ₂
	728	Ac-CDSELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAA-NH ₂
	729	Ac-DSELEIKRYKNRVASRKCRKAKFKQLLQHYREVAAA-NH ₂

12.03.02

T		Sekvence
	730	Desaminotyrosin-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
5	731	WASLWNW-NH ₂
	732	Ac-EAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQQLLGIWG-NH ₂
	733	Ac-IEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQQLLGIW-NH ₂
	734	Ac-AIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQQLLGI-NH ₂
	735	Ac-RAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQQLLG-NH ₂
10	736	Ac-LRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQQLL-NH ₂
	737	Ac-LLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQQL-NH ₂
	738	Ac-NLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQQL-NH ₂
	739	Ac-QNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKD-NH ₂
	740	Ac-QQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLK-NH ₂
15	741	Ac-QQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYL-NH ₂
	742	Ac-VQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERY-NH ₂
	743	Ac-IVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVER-NH ₂
	744	Ac-GIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVE-NH ₂
	745	Ac-SGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAV-NH ₂
20	758	Ac-RSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTV-NH ₂
	760	Ac-GARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQL-NH ₂
	764	Ac-GSTMGARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQH-NH ₂
	765	Ac-GSTMGARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQH-NH ₂
	766	Ac-EGSTMGARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQ-NH ₂
25	767	Ac-RAKFKQLLQHYREVAAAKSSSENDRLRLL-NH ₂
	768	Ac-AKFKQLLQHYREVAAAKSSSENDRLRLLL-NH ₂
	769	Ac-KFKQLLQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLK-NH ₂
	770	Ac-FKQLLQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLKQ-NH ₂
	771	Ac-RAKFKQELQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLKQMCPS-NH ₂
30	772	DKWASLWNWF-NH ₂
	773	Biotin-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	774	Ac-YDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	775	Ac-YDASISQVNEKINQSLAYIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	776	Ac-FDASISQVNEKINQSLAYIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
35	777	Ac-FDASISQVQEKIQSLAFIRKSDELLHQVQAGKST-NH ₂
	778	Ac-FDASISQVNEKINQALAFIRKADELLHNVNAGKST-NH ₂
	779	Ac-FDASISQVNEKINQALAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	780	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKADELLHNVNAGKST-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	781	Ac-YDASISQVQEEIQQALAFIRKADELLEQVQAGKST-NH ₂
	782	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLENVNAGKST-NH ₂
5	783	Ac-FDASISQVNEEINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
	784	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLENV-NH ₂
	785	Ac-VFPSDEFDASISQVNEEINQSLAFIRKSDELLENV-NH ₂
	786	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	787	Ac-VFPSDEFDASISQVNEEINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
10	788	Ac-SNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQ-NH ₂
	789	Ac-WSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEES-NH ₂
	790	Ac-SWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEE-NH ₂
	791	Ac-ASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIE-NH ₂
	792	Ac-NASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLI-NH ₂
15	793	Ac-WNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSL-NH ₂
	793	Ac-WNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSL-NH ₂
	794	Ac-PWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHS-NH ₂
	795	Ac-VPWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIH-NH ₂
	796	Ac-AVPWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLI-NH ₂
20	797	Ac-TAVPWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSL-NH ₂
	798	Ac-TTAVPWNASWSNKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTS-NH ₂
	800	Ac-AAASDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	801	Ac-VFPAAAFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	802	Ac-VFPSDEAAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
25	803	Ac-VFPSDEFDAAAAQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	804	Ac-VFPSDEFDASISAAAEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	805	Ac-VFPSDEFDASISQVNAAANQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	806	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKIAAALAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	807	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSAAAIRKSDELLHNV-NH ₂
30	808	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFAAASDELLHNV-NH ₂
	809	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKAAALLHNV-NH ₂
	810	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEAAANV-NH ₂
	811	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLAAA-NH ₂
	812	Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
35	813	Ac-AAAAIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	814	Ac-YTSLIHSLIEESQQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	815	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	816	Ac-QIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKQ-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	817	Ac-QIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQQQQEKN-NH ₂
	818	Ac-QIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQQQQEKQ-NH ₂
5	819	Ac-NKSLEQIWNNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQQ-NH ₂
	820	Ac-FDASISQVNEKINQSLAFIEESDELLHNVNAGKST-NH ₂
	821	Ac-ACIRKSDELCL-NH ₂
	823	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKDEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	824	Ac-YTSLIHSLIEESQDQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
10	825	Ac-YTSLIHSLIEESQDQQEKDEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	826	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWDF-NH ₂
	841	Ac-LEANITQSLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWL-NH ₂
	842	Ac-LEANISASLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWL-NH ₂
	843	Ac-LEANISALLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWL-NH ₂
15	844	Ac-LEANITALLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWL-NH ₂
	845	Ac-LEANITASLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWL-NH ₂
	845	Ac-LEANITASLEQAQIQQEKMYELQKLNSWDVFTNWL-NH ₂
	846	Ac-RAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLKQMUPS-NH ₂
	847	Ac-Abu-DDE-Abu-MNSVKNGTYDYPKYEEESKLNREIKGVKL-NH ₂
20	856	Ac-WQEWQKVRYLEANISQSLEQAQIQQEKMYELQKL-NH ₂
	860	Ac-DEYDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH ₂
	861	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWN-NH ₂
	862	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLW-NH ₂
	863	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASL-NH ₂
25	864	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWAS-NH ₂
	865	Ac-QARQLLSGIVQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVE- -RYLKDQ-NH ₂
	866	Ac-DREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	867	Ac-NNMTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDK-NH ₂
30	868	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWAAA-NH ₂
	869	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWAAAANWF-NH ₂
	870	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDAAASLWNWF-NH ₂
	871	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELAAAKWASLWNWF-NH ₂
	872	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQAAAEELDKWASLWNWF-NH ₂
35	873	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKAAAELELDKWASLWNWF-NH ₂
	874	Ac-YTSLIHSLIEESQNQAAANEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	875	Ac-YTSLIHSLIEESAAAQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	876	Ac-YTSLIHSLIAAAQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	877	Ac-YTSLIHAAAEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	878	Ac-YTSAAASLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
5	879	Ac-EIWNNMTWMEWDRENEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	880	Ac-YISEVNEEINQSLAFIRKADELLENVDKWASLWNWF-NH ₂
	881	Ac-TSVITIELSNIKENKANGTDAKVKLKQELDKYKN-NH ₂
	882	YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFMG-NH ₂
	883	Ac-NEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
10	884	Biotin-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL-NH ₂
	885	Biotin-PLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLH-NH ₂
	886	Biotin-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	887	Biotin-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH ₂
	888	Biotin-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
15	889	Biotin-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	890	Ac-VYPSDEFDASISQVQEEIQQALAFIRKADELLEQV-NH ₂
	891	Ac-NYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	892	Ac-NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	893	Ac-INNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
20	894	Ac-EINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	895	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFN-NH ₂
	896	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNI-NH ₂
	897	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNIT-NH ₂
	898	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNITN-NH ₂
25	899	Ac-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGK-NH ₂
	900	Ac-NYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFN-NH ₂
	901	Ac-NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFNI-NH ₂
	905	Ac-KCRAKFKQLLQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLKQMCPSLD -VDSIIPRTPD-NH ₂
30	906	Ac-RAKFKQLLQHYREVAAAKSSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDSII -PRTPD-NH ₂
	907	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIAAADELLENV-NH ₂
	909	Ac-YDASISQVNEEINQALAYIRKADELL-NH ₂
	910	Ac-M-Nle-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL-NH ₂
35	911	Ac-KNGTYDYPKYEEESKLNRNEIKGVKLSSMGVYQI-NH ₂
	912	Ac-VTEKIQMASDNINDLIQSGVNTRLTTIQSHVQNYI-NH ₂
	913	QNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	914	Ac-QNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	915	LWNWF-NH ₂
	916	ELLELDKWASLWNWF-NH ₂
5	917	EKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	918	SLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	919	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWN
	920	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWN
	921	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLW
10	922	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASL
	923	TSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	924	SLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	925	LIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	926	IHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
15	940	Ac-AAVALLPAVLLALLAPSELEIKRYKNRVASRKCRKFKQL -LQHYREVAAAK-NH ₂
	941	Ac-AAVALLPAVLLALLAPCRKFKQLLQHYREVAAAKSSSEND -RLRLLLKQMCP-NH ₂
	942	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNNNIERDWEMWTMNNWIQ-NH ₂
20	944	VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	945	Ac-LMQLARQLMQLARQMKQLADSLMQLARQVSRLESA-NH ₂
	946	Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELL-NH ₂
	947	Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLEL-NH ₂
	948	Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLEL-NH ₂
25	949	Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂
	950	Biotin-W-Nle-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLEL-NH ₂
	951	Ac-YLEYDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLEL-NH ₂
	952	Ac-IKQFINMWQEVGKAMYA-NH ₂
	953	Ac-IRKSDELL-NH ₂
30	954	Dekanoyl-IRKSDELL-NH ₂
	955	Acetyl-Aca-Aca-IRKSDELL-NH ₂
	956	Ac-YDASISQV-NH ₂
	957	Ac-NEKINQSL-NH ₂
	958	Ac-SISQVNEEINQALAYIRKADELL-NH ₂
35	959	Ac-QVNEEINQALAYIRKADELL-NH ₂
	960	Ac-EEINQALAYIRKADELL-NH
	961	Ac-NQALAYIRKADELL-NH ₂
	962	Ac-LAYIRKADELL-NH ₂

T		
No.	Sekvence	
963	FDASISQVNEKINQALAFIRKSDELL-NH ₂	
964	Ac-W-Nle-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂	
5	965	Ac-ASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKQMCPSLDVDS-NH ₂
967	Ac-WLEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂	
968	Ac-YVKGEPIINFYDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSL-NH ₂	
969	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQSLAYIRKADELLENV-NH ₂	
970	Ac-YDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂	
10	971	Ac-YDASISQVNEEINQALAYIRKADELLE-NH ₂
972	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKAAELLHNV-NH ₂	
973	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKALELLHNV-NH ₂	
974	Dekanoyl-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂	
975	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQLLAYIRKLDELLENV-NH ₂	
15	976	Ac-DEYDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
977	Ac-SNDQGSYGAAADKESTQKAFDGITNKVNSVIEKTNT-NH ₂	
978	Ac-ESTQKAFDGITNKVNSVIEKTNTQFEAVGKEFGNLEKR-NH ₂	
979	Ac-DGITNKVNSVIEKTNTQFEAVGKEFGNLEKRLLENLNK-NH ₂	
980	Ac-DSNVKNLYDKVRSQLRDNVKELGNGAFEFYHK-NH ₂	
20	981	Ac-RDNVKELGNGAFEFYHKADDEALNSVKNGTYDYPKY-NH ₂
982	Ac-EFYHKADDEALNSVKNGTYDYPKY-NH ₂	
983	Ac-AAVALLPAVLLALLAPAADKESTQKAFDGITNKVNS-NH ₂	
984	Ac-AAVALLPAVLLALLAPAADSNVKNLYDKVRSQLRDN-NH ₂	
985	Ac-KESTQKAFDGITNKVNSV-NH ₂	
25	986	Ac-IEKTNTQFEAVGKEFGNLER-NH ₂
987	Ac-RLENLNKRVEDGFLDVWTYNAELLVALENE-NH ₂	
988	Ac-SNVKNLYDKVRSQLRDN-NH ₂	
989	Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEEL-NH ₂	
990	Ac-WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQE-NH ₂	
30	991	Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEEL-NH ₂
992	Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQE-NH ₂	
993	Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLE-NH ₂	
994	Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELL-NH ₂	
995	Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEEL-NH ₂	
35	996	Ac-YTKFIYTLLEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
997	Ac-YMKQLADSLMQLARQVSRLESA-NH ₂	
998	Ac-YLMQLARQMKQLADSLMQLARQVSRLESA-NH ₂	
999	Ac-YQEWERKVDFFLEENITALLEEAQIQQEKNMYYELQKL-NH ₂	

T		
No.	Sekvence	
	1000	Ac-WMAWAAAINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLEE-NH ₂
	1001	Ac-YASLIAALIEESQNQQEKNEQEELLEEELAKWAALWAWF-NH ₂
5	1002	[Ac-EWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELGEC-NH ₂] dimer
	1003	Ac-YDISIELNKA KSDLEESKEWIKKSNQKLDSIGNWH-NH ₂
	1004	Biotinyl-IDISIELNKA KSDLEESKEWIKKSNQKLDSIGNWH-NH ₂
	1005	Ac-YTSLI-OH
	1006	Fmoc-HSLIEE-OH
10	1007	Fmoc-SQNQQEK-OH
	1008	Fmoc-NEQEELLEE-OH
	1009	Fmoc-DKWASL-OH
	1010	Fmoc-WNWF-OH
	1011	Ac-AKTLERTWDTLNHLLFISSALYKLNKLSVAQITLSI-NH ₂
15	1012	Ac-NITLQAKIKQFINMWQEVGKAMYA-NH ₂
	1013	Ac-LENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDN-NH ₂
	1014	Ac-LENERTLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNVKELGNG-NH ₂
	1015	Ac-TLDFHDSNVKNLYDKVRLQLRDNVKELGNGAFEF-NH ₂
	1016	Ac-IDISIELNKA KSDLEESKEWIKKSNQKLDSIGNWH-NH ₂
20	1021	Biotinyl-SISQVNEEINQALAYIRKADELL-NH ₂
	1022	Biotinyl-SISQVNEEINQSLAYIRKSDELL-NH ₂
	1023	Ac-SISQVNEEINQSLAYIRKSDELL-NH ₂
	1024	Ac-IDISIELNKA KSDLEESKEWIEKSNQELDSIGNWE-NH ₂
	1025	Ac-IDISIELNKA KSDLEESKEWIKKSNQELDSIGNWH-NH ₂
25	1026	Ac-IDISIELNKA KSDLEEAKEWIDDANQKLDSIGNWH-NH ₂
	1027	Ac-IDISIELNKA KSDLEESKEWIKKANQKLDSIGNWH-NH ₂
	1028	Ac-IDISIELNKA KSDLEEAKEWIKKSNQKLDSIGNWH-NH ₂
	1029	Biotinyl-NSVALDPIDISIELNKA KSDLEESKEWIKKSNQKL-NH ₂
	1030	Biotinyl-ALDPIDISIELNKA KSDLEESKEWIKKSNQKLDSI-NH ₂
30	1031	Desaminotyrosin-NSVALDPIDISIELNKA KSDLEESKEWIKKSNQKL-NH ₂
	1032	Desaminotyrosin-ALDPIDISIELNKA KSDLEESKEWIKKSNQKLDSI-NH ₂
	1033	Ac-YDASISQVNEEINQALAFIRKADEL-NH ₂
35	1034	Ac-YDASISQVNEEINQSLAYIRKADELL-NH ₂
	1035	Biotinyl-YDASISQVNEEINQALAYIRKADELL-NH ₂
	1036	Biotinyl-YDASISQVNEEINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1037	Ac-YDASISQVNEEINQSLAFIRKSDELL-NH ₂

T	
No.	Sekvence
1038	Ac-WLEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEL-NH ₂
1039	Biotinyl-IDISIELNKAQSDLEESKEWIRRSNQKLD SIGNWH-NH ₂
5	1044 Ac-YESTQKAFDGITNKVNSVIEKTNTQFEAVGKEFGNLEKR-NH ₂
	1045 Biotin-DEYDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1046 Ac-MEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL-NH ₂
	1047 Ac-WQEWQKVRYLEANISQSLEQAQIQQEKNNMYEL-NH ₂
	1048 Ac-WQEWQKVRYLEANISQSLEQAQIQQEKNEYEL-NH ₂
10	1049 Ac-WQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYEL-NH ₂
	1050 Ac-WQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNNMYEL-NH ₂
	1051 Ac-WQEWQKVRYLEANISQSLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1052 Ac-WQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1053 Ac-WQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNNMYELQKL-NH ₂
15	1054 Ac-IDISIELNKAQSDLEESKEWIEKSNQKLD SIGNWH-NH ₂
	1055 Ac-EFGNLEKRLNENLNKRVEDGFLDVWWTYNAELLVALENE-NH ₂
	1056 Ac-EDGFLDVWWTYNAELLVLMENERTLDFHDSNVKNLYDKVRMQL-NH ₂
	1057 Ac-SISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1058 Desaminotyr-SISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
20	1059 Ac-SISQVNEKINQSLAYIRKSDELL-NH ₂
	1060 Ac-QQLLDVVKRQQEMLRLTVWGTKNLQARTVAIEKYLKDQ-NH ₂
	1061 YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFC
	1062 Ac-FDASISQVNEKINQSLAYIRKSDELL-NH ₂
	1063 Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWA
25	1064 Indol-3-acetyl-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1065 Indol-3-acetyl-DEFDESISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1066 Indol-3-acetyl-DEFDESISQVNEKIEQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1067 Indol-3-acetyl-DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1068 Indol-3-acetyl-DEFDESISQVNEKIEESLQFIRKSDELL-NH ₂
30	1069 Indol-3-acetyl-GGGGGDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1070 2-Naftoyl-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1071 DesNH ₂ Tyr-DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1072 Biotin-ALDPIDISIELNKAQSDLEESKEWIRRSNQKLD SI-NH ₂
	1073 Ac-YDASISQVNEKINQALAYIRKADELLHNVNAGKST-NH ₂
35	1074 Ac-VYPSDEYDASISQVNEKINQALAYIRKADELLHNV-NH ₂
	1075 Ac-VYPSDEYDASISQVNEKINQSLAYIRKSDELLHNV-NH ₂
	1076 Ac-WGWGYGYG-NH ₂
	1077 Ac-YGWGWGWGF-NH ₂

T		No.	Sekvence
		1078	Ac-WQEWQKVRYLEANITALQEQAQIQAEKAEYELQKL-NH ₂
		1079	Ac-WQEWQKVRYLEAEITALQEQAQIQAEKAEYELQKL-NH ₂
5		1081	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKQAS
		1082	Ac-VWPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
		1083	Ac-SKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDWGV-NH ₂
		1084	Ac-LSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDWG-NH ₂
		1085	Ac-DLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSDW-NH ₂
10		1086	Ac-EDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTSD-NH ₂
		1087	Ac-IEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWTS-NH ₂
		1088	Ac-GIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWWT-NH ₂
		1089	Ac-IGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKWW-NH ₂
		1090	2-Naftoyl--PSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVN-NH ₂
15		1091	Ac-VYPSDEYDASISQVNEKINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
		1092	Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQALAFIRKADELLENV-NH ₂
		1093	Ac-VYPSDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELLENV-NH ₂
		1094	Biotinyl-YDASISQVNEKINQSLAFIRESDELL-NH ₂
		1095	Ac-AIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGKW-NH ₂
20		1096	Ac-AAIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGGK-NH ₂
		1097	Ac-DAAIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLGG-NH ₂
		1098	Ac-PDAAIGIEDLSKNISEQIDQIKKDEQKEGTGWGLG-NH ₂
		1099	Ac-NITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWRQWI-NH ₂
		1100	Ac-KNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWRQW-NH ₂
25		1101	Ac-TKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWRQ-NH ₂
		1102	Ac-WTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGWR-NH ₂
		1103	Ac-DWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTGW-NH ₂
		1104	Ac-HDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWTG-NH ₂
		1105	Ac-PHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWWT-NH ₂
30		1106	Ac-EPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDNWW-NH ₂
		1107	Ac-IEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDN-NH ₂
		1108	Ac-AIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDNDN-NH ₂
		1109	Ac-AAIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDND-NH ₂
		1110	Ac-DAAIEPHDWTKNITDKIDQIIHDFVDKTLPDQGDN-NH ₂
35		1111	Ac-LSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPIFF-NH ₂
		1112	Ac-GLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPIF-NH ₂
		1113	Ac-VGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPI-NH ₂
		1114	Ac-FVGLSPTWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLLPI-NH ₂

T		
No.	Sekvence	
	1115	Ac-WFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPLL-NH ₂
	1116	Ac-QWFVFLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLPL-NH ₂
5	1117	Ac-VQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLP-NH ₂
	1118	Ac-FVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFL-NH ₂
	1119	Ac-PFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPF-NH ₂
	1120	Ac-VPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSP-NH ₂
	1121	Ac-LVPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILS-NH ₂
10	1122	H-NHTTWMEWDREINNYTSLIHS�IEESQNQQEKNEQELLELDKW-OH
	1123	H-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARI -LAVERYLKDQ-OH
	1124	Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIREADELLENV-NH ₂
	1125	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAYIREADELLENV-NH ₂
15	1126	Ac-DEFDASISQVNEKINQSLAYIREADELL-NH ₂
	1127	Ac-NEQELLELDKWASLWNWFGGGGDEFDASISQVNEKINQS -LAFIRKSDELL-NH ₂
	1128	Ac-LELDKWASLWNWFGGGGDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1129	Naftoyl-EGEGEGEGDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
20	1130	Ac-ASRKCRKFKQLLQHYREVAAKSSENDRLRLLKQMCPSLDV-NH ₂
	1131	Naftoyl-GDEEDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1132	Naftoyl-GDEEDASESQVNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1133	Naftoyl-GDEEDASESQQNEKINQSLAFIRKSDELL-NH ₂
	1134	Naftoyl-GDEEDASESQQNEKQNQSLAFIRKSDELL-NH ₂
25	1135	Naftoyl-GDEEDASESQQNEKQNQSEAFIRKSDELL-NH ₂
	1136	Ac-WGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1137	Ac-YTSLGGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGGWNWF-NH ₂
	1138	Ac-YTSLIHS�GGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGGWA- -SLWNWF-NH ₂
30	1139	2-Naftoyl-GDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1140	2-Naftoyl-GDEEDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1141	2-Naftoyl-GDEEDESISQVQEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1142	2-Naftoyl-GDEEDESISQVQEKIEESLLFIRKSDELL-NH ₂
	1143	Biotin-GDEYDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
35	1144	2-Naftoyl-GDEYDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1145	Ac-YTSLIHS�IDEQEKIEELAFIRKSDELLELDKWNWF-NH ₂
	1146	VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1147	Ac-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGSKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂

T		No.	Sekvence
		1148	GGGVYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
		1149	Ac-NNLLRAIEAQQHLLQLTVWGEKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
5		1150	Ac-PTRVNYILIIGVLVLAbuEVTGVRADVHLL-NH ₂
		1151	Ac-PTRVNYILIIGVLVLAbuEVTGVRADVHLLLEQPGNLW-NH ₂
		1152	Ac-PEKTPLLPTRVNYILIIGVLVLAbuEVTGVRADVHLL-NH ₂
		1153	AhaGGGVYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
		1155	Ac-YTSLIHSLGGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
10		1156	Ac-YTSLGGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
		1157	Ac-DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGGWASLWNWF-NH ₂
		1158	Ac-DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGGWNWF-NH ₂
		1159	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKASLWNWF-NH ₂
		1160	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKSLWNWF-NH ₂
15		1161	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKLWNWF-NH ₂
		1162	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWNWF-NH ₂
		1163	Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKA -SLWNWF-NH ₂
		1164	Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL -DKSLWNWF-NH ₂
20		1165	Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKLWNWF-NH ₂
		1166	Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWNWF-NH ₂
		1167	Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK -WASLWN- NH ₂
25		1168	Ac-MTWMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASL-NH ₂
		1169	(Pyr) HWSY(2-naftyl-D-Ala)LRPG-NH ₂
		1170	Ac-WNWFDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLWNWF-NH ₂
		1171	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKYASLYNYF-NH ₂
		1172	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKYAYLYNYF-NH ₂
30		1173	2-Naftoyl-AcaAcaAcaDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL -AcaAcaAcaW-NH ₂
		1174	2-Naftoyl-AcaAcaAcaGDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLG -AcaAcaAcaW-NH ₂
		1175	2-Naftoyl-GDEFDESISQVNEKIEESLAFIRESDELL-NH ₂
35		1176	2-Naftoyl-GDEFDESISQVNEKIEESLAFIEESDELL-NH ₂
		1177	Ac-WQEWQKVNYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
		1178	Ac-WQEWQKVDYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
		1179	Ac-WQEWQKVRWLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂

T		
No.	Sekvence	
	1180	Ac-WQEWKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1181	Ac-WQEWKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
5	1182	Ac-WQEWKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1183	Ac-WQEWKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1184	Ac-WQEWKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1185	Ac-WQEWKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1186	Ac-WQEWKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
10	1187	Ac-WQEWKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1188	Ac-VNalPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1189	Ac-VNalPSDENalDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1190	Ac-VNalPSDEYDASISQVNEEINQALANalIRKADELLENV-NH ₂
	1191	Ac-VYPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIREADELLFNFF-NH ₂
15	1192	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1193	Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH ₂
	1194	Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWFW-NH ₂
	1195	Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWFW-NH ₂
	1196	Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWFW-NH ₂
20	1197	Ac-YTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWFW-NH ₂
	1198	Naftoyl-Aua-Aua-Aua-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAua-Aua-Aua-W-NH ₂
	1199	Ac-WAAWEQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1200	Ac-WQEAQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
25	1201	Ac-WQEAQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1202	Ac-WQEAQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1203	Ac-WQEAQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1204	Ac-WQEAQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1205	Ac-WQEAQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
30	1206	Ac-WQEAQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL-NH ₂
	1207	Ac-WQEAQKQVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKLGGGG-WASLWNF-NH ₂
	1208	2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDLT-NH ₂
	1209	2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFTRKSDLT-NH ₂
35	1210	2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKTNQSLAFTRKSDLT-NH ₂
	1211	2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKTNQSLAFTRKSDLT-NH ₂
	1212	2-Naftoyl-GDEFDASTSQTNEKTNQSLAFTRKSDLT-NH ₂
	1213	2-Naftoyl-GDEFDASTSQTNEKTNQSLAFTRKSDLT-NH ₂

T	No.	Sekvence
	1214	2-Naftoyl-GDEFDEEISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1215	2-Naftoyl-GDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELA-NH ₂
5	1216	2-Naftoyl-GDEFDASASQANEKANQSLAFARKSDELA-NH ₂
	1217	2-Naftoyl-GDEFDESISQVNEKIEESLAFTRKSDELL-NH ₂
	1218	2-Naftoyl-GDEFDESISQVNEKTEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1219	2-Naftoyl-GDEFDESISQTNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
	1220	2-Naftoyl-GDEFDESTSQVNEKIEESLAFIRKSDELL-NH ₂
10	1221	Ac-WNWFDEFDESTSQVNEKIEESLAFIRKSDELLWNWF-NH ₂
	1222	Ac-WNWFDEFDESTSQTNEKIEESLAFIRKSDELLWNWF-NH ₂
	1223	Ac-WNWFDEFDESTSQTNEKTEESLAFIRKSDELLWNWF-NH ₂
	1224	Ac-LQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVAL-NH ₂
	1225	Ac-YTNLIYTLLEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWSWF-NH ₂
15	1226	Ac-WQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASL- -WNWF-NH ₂
	1227	Ac-NNMTWQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQK- -LDKWASLWNWF-NH ₂
	1230	Ac-WNWFIEESDELLWNWF-NH ₂
20	1231	2-Naftoyl-GFIEESDELLW-NH ₂
	1232	Ac-WFIEESDELLW-NH ₂
	1233	2-Naftoyl-GFNFFIEESDELLFNFF-NH ₂
	1234	2-Naftoyl-GESDELW-NH ₂
	1235	Ac-WNWFDEFDESISQVQEEIEESLAFIEESDELLGGWNWF-NH ₂
25	1236	Ac-WNWFHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1237	Ac-YTSLITALLEQAQIQQEEENEYELQALDEWASLWEWF-NH ₂
	1238	Ac-YTSLIHSLGGDEFDESISQVNEEIEESLAFIEESDELLGGWA- -SLWNWF-NH ₂
	1239	2-Naftoyl-GDEFDESISQVQEEIEESLAFIEESDELL-NH ₂
30	1240	H-QARQLLSSIMQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARI- -LAVERYLKDQ-OH
	1241	Ac-CPKYVKQNTLKLATGMRNVPEKQTR-NH ₂
	1242	Ac-GLFGAIAGFIENGWEGMIDGWYGFRHQNSC-NH ₂
	1243	Ac-LNFLGGT-NH ₂
35	1244	Ac-LDSWWTSLNFLGGT-NH ₂
	1245	Ac-ILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT-NH ₂
	1246	Ac-GFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT-NH ₂
	1247	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH ₂

T		
No.	Sekvence	
1248	Ac-WNWFITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH ₂	
1249	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂	
5 1250	Ac-WQEWQKVRYLEANITALLEQAQIQQEKIEYELQKL-NH ₂	
1251	Ac-WQEWQKVRYLEAQITALLEQAQIQQEKIEYELQKL-NH ₂	
1252	Ac-KENKANGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLMQS-NH ₂	
1253	Ac-NIKENKANGTDAKVKLIKQELDKYKNAVTELQLLM-NH ₂	
1254	(FS) -YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂	
10 1255	2-Naftoyl-GWNWFAcaDEFDESISQVQEEIEESLAFIEESDELL -AcaWNWF-NH ₂	
1256	Ac-WNWFDEFDESISQVNEKIEESLAFIEESDELLGWNWF-NH ₂	
1257	Ac-WNWFDEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELLGWNWF-NH ₂	
1258	Ac-WNWF-Aca-DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL-Aca- -WNWF-NH ₂	
15 1259	Ac-WNWF-Aca-DEFDESISQVNEKIEESLAFIEESDELL-Aca- -WNWF-NH ₂	
1260	Ac-EESQNQQEKNEQELLELDKWA-NH ₂	
1261	EESQNQQEKNEQELLELDKWA	
20 1262	Ac-CGTTDRSGAPTYSWGANDTDVFVLNNTRPPLGNWFG-NH ₂	
1263	Ac-GVEHRLEAACNWTRGERADLEDRDRSELSP-NH ₂	
1264	Ac-CVREGNASRAWVAVTPTVATRDGKLPT-NH ₂	
1265	Ac-CFSPRHHWTTQDANASIYPG-NH ₂	
1266	Ac-LQHYREVAAAKSSENDRLRLLKQMCPSLDVDS-NH ₂	
25 1267	Ac-WQEWDREISNYTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEQA- -SLWEWF-NH ₂	
1268	Ac-CWQEWDREISNYTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWA -SLWEWFC-NH ₂	
1269	Ac-WQEWDREISNYTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH ₂	
30 1270	Ac-CWQEWDREISNYTSLITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWFC-NH ₂	
1271	Ac-GQNSQSPTSNSHPTSAPPTAPGYRWA-NH ₂	
1272	Ac-PGSSTTSTGPARTALTTAQGTSLYPSA-NH ₂	
1273	Ac-PGSSTTSTGPARTALTTAQGTSLYPSAAATKPSDGNATA-NH ₂	
1275	Ac-WQEWDREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH ₂	
35 1276	Ac-WQEWDREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWASLWEWF-NH ₂	
1277	Ac-WQEWDREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH ₂	
1278	Ac-WQEWDREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH ₂	
1279	Ac-WQEWEREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIEWEWF-NH ₂	

T		No.	Sekvence
		1280	Ac-WQEWEREITALLEQAQIQQEKIEYELQKLDEWEWF-NH ₂
		1281	Ac-WQEWETALLEQAQIQQEKNEYELQKLDEWEWF-NH ₂
5		1282	Ac-WQEWETALLEQAQIQQEKNEYELQKLIEWEWF-NH ₂
		1283	Ac-WQEWETALLEQAQIQQEKIEYELQKLDEWEWF-NH ₂
		1284	Ac-WQEWETALLEQAQIQQEKIEYELQKLIEWEWF-NH ₂
		1285	Ac-WQEWDRIDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
		1286	Ac-WQEWEREIDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
10		1287	Ac-WQEWIDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
		1288	Ac-WQEWDRIDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
		1289	Ac-WQEWEREIDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
		1290	Ac-WQEWIDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
		1291	Ac-WQEWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
15		1292	Ac-WQEWDEYDASISQVNEEINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
		1293	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIEWEWF-NH ₂
		1294	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIEWASLWEWF-NH ₂
		1295	Ac-WQEWETALLEQAQIQQEKIEYELQKLIEWASLWEWF-NH ₂
		1298	-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
20		1299	Ac-WVYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENVWNWF-NH ₂
		1300	YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
		1301	Ac-WQEWDEYDASISQVNEKINQALAYIREDAELWAWF-NH ₂
		1302	Ac-WQAWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWAWF-NH ₂
		1303	Ac-WQAWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH ₂
25		1304	Biotin-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEL-NH ₂
		1305	Biotin-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAF-NH ₂
		1306	Biotin-QVNEKINQSLAFIRKSDELLHNVNAGKST-NH ₂
		1307	Ac-WMEWDREI-NH ₂
		1308	Ac-WQEWQKI-NH ₂
30		1309	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIKWASLWEWF-NH ₂
		1310	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIEWASLWEWF-NH ₂
		1311	Ac-WQEWEREISAYTSLITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIEWEWF-NH ₂
		1312	Ac-WQEWEREISAYTSLITALLEQAQIQQEKIEYELQKEWEWF-NH ₂
		1313	Ac-WQEWEREISAYTSLITALLEQAQIQQEKIEYELQKEWEW-NH ₂
35		1314	Ac-WQEWEREISAYTSLITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIEWEW-NH ₂
		1315	Ac-FNLSDHSESIQKKFQLMKKHVNKIGVSDPIGSWLR-NH ₂
		1316	Ac-DHSESIQKKFQLMKKHVNKIGVSDPIGSWLRGIF-NH ₂
		1317	Ac-WSVKQANLTSSLGDLDDVTSIRHAVLQNRA-NH ₂

T		No.	Sekvence
		1318	Biotin-WMEWDREI-NH ₂
		1319	Biotin-NNMTWMEWDREINNYTSL-NH ₂
5		1320	Ac-GAASLTTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLL-NH ₂
		1321	Ac-ASLTTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQL-NH ₂
		1322	Ac-VSVGNTLYYVKNQEGKSLYVKGEPIINFYDPLVF-NH ₂
		1323	Ac-QHWSYGLRPG-NH ₂
		1324	Ac-WQEWEQKIQHWSYGLRPGWASLWEWF-NH ₂
10		1325	Ac-WQEWEQKIQHWSYGLRPGWEWF-NH ₂
		1326	Ac-WNWFQHWSYGLRPGWNWF-NH ₂
		1327	Ac-FNFFQHWSYGLRPGFNFF-NH ₂
		1328	Ac-GAGAQHWSYGLRPGAGAG-NH ₂
		1329	PLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGT
15		1330	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLAKWASLWEWF-NH ₂
		1331	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLAEWASLWEWF-NH ₂
		1332	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAEYELQKLAEWASLWEWF-NH ₂
		1333	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAEYELQKLAEWASLWAWF-NH ₂
		1334	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAEYELQKLAKWASLWAWF-NH ₂
20		1335	Ac-TNKAVVSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVKN-NH ₂
		1336	Ac-KAWSLSNGVSVLTSKVLDLKNYIDKQLLPVKNQS-NH ₂
		1337	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWEWF-NH ₂
		1338	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWEWF-NH ₂
		1339	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLDKWEWF-NH ₂
25		1340	Ac-YDPLVFPSDEFDASISQVNEKINQSLAF-NH ₂
		1341	Fluor--VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
		1342	Fluor-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF-NH ₂
		1344	Ac-SGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARIL-NH ₂
		1345	Ac-QQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
30		1346	Ac-SGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAVERYLKDQ-NH ₂
		1347	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAWF-NH ₂
		1348	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWASLWAW-NH ₂
		1349	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAEYELQKLAEWASLWAW-NH ₂
		1350	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWAGLWAWF-NH ₂
35		1351	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAEWAGLWAW-NH ₂
		1352	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAEYELQKLAEWAGLWAW-NH ₂
		1353	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWAGLWEWF-NH ₂
		1354	Ac-WQEWQHWSYGLRPGWEWF-NH ₂

T	
No.	Sequence
1355	Ac-WQAWQHWSYGLRPGWAWF-NH ₂
1356	Biotinyl-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
5 1357	WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF
1358	WQEWQKITALLEQAQIQQEKIEYELQKLIEWEWF
1361	Ac-AGSTMGARSMTLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQ-NH ₂
1362	Ac-AGSAMGAASLTLSAQSRRTLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQ-NH ₂
1363	Ac-AGSAMGAASTALTAQSRRTLLAGIVQQQQQLLDWKRQQ-NH ₂
10 1364	Ac-ALTAQSRRTLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQELLRLTVWGT-NH ₂
1365	Ac-TLSAQSRRTLLAGIVQQQQQLLDWKRQQEMLRLTVWGT-NH ₂
1366	Ac-TLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGI-NH ₂
1367	Ac-WQAWIEYEELSQQVKEKIEQSLAYIREADELWAWF-NH ₂
1368	Ac-WQAWIEYEASLSQAKEKIEESKAYIREADELWAWF-NH ₂
15 1369	Ac-WQAWIEYERLLVQAKLKIAIAKLYIAKELLEWAWF-NH ₂
1370	Ac-WQAWIEYERLLVQVKLKIAIALLYIAKELLEWAWF-NH ₂
1371	Ac-WQAWIELERLLVQVKLKLAIKLEIAKELLEWAWF-NH ₂
1372	Ac-GEWTYDDATKTFTVTEGGH-NH ₂
1373	Ac-WQEWQKIGEWTYDDATKTFTVTEGGHWASLWEWF-NH ₂
20 1374	Ac-GEWTYDDATKTFTVTE-NH ₂
1375	Ac-WQEWQKIGEWTYDDATKTFTVTEWASLWEWF-NH ₂
1376	Ac-MHRFDYRT-NH ₂
1377	Ac-WQEWQKIMHRFDYRTWASLWEWF-NH ₂
1378	Ac-MHRFNWSTGGG-NH ₂
25 1379	Ac-WQEWQKIMHRFNWSTGGGWASLWEWF-NH ₂
1380	Ac-MHRFNWST-NH ₂
1381	Ac-WQEWQKIMHRFNWSTWASLWEWF-NH ₂
1382	Ac-LLVPLARIMTMSSVHGGG-NH ₂
1383	Ac-WQEWQKILLVPLARIMTMSSVHGGGWASLWEWF-NH ₂
30 1384	Ac-LLVPLARIMTMSSVH-NH ₂
1385	Ac-WQEWQKILLVPLARIMTMSSVHWASLWEWF-NH ₂
1386	TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK
1387	Ac-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK-NH ₂
1388	Ac-TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE-NH ₂
35 1389	TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE
1390	Ac-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARILAV- -ERY-NH ₂

120300

T		No.	Sekvence
		1391	Rhod-QARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQA -RILAVERY-NH ₂
5		1392	Ac-GAASLTLSAQSRRTLLAGIVQQQQQLLDWKRQQEML-NH ₂
		1393	Ac-GSAMGAASLTLSAQSRRTLLAGIVQQQQQLLDVVKRQQEML-NH ₂
		1394	Ac-PALSTGLIHLHQNIVDVQFLFGVGSSIASWAIKWEY-NH ₂
		1395	Ac-PALSTGLIHLHQNIVDVQFLYGVGSSIASWAIK-NH ₂
		1396	Ac-LSTTQWQVLPUSFTTLPALSTGLIHLHQNIVDVQY-NH ₂
10		1397	Ac-FRKFPPEATFSRUGSGPRITPRUMVDFPFRLWHY-NH ₂
		1398	Ac-DFPFRLWHFPUTINYTIFKVRLFVGGVEHRLEAAUNWTR-NH ₂
		1399	Ac-YVGGVEHRLEAAUNWTRGERUDLEDRDRSELSPL-NH ₂
		1400	MVYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKDELLENV
		1402	Ac-GPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGG-NH ₂
15		1403	Ac-LGPLLVLQAGFFLLTRILLIPQSLDSWWTSLNFLG-NH ₂
		1404	Ac-FLGPLLVLQAGFFLLTRILLIPQSLDSWWTSLNFL-NH ₂
		1405	Ac-YTNTIYTLLEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
		1406	YTNTIYTLLEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF
		1407	Ac-YTGIIYNLLEESQNQQEKNEQEELLELDKWANLWNWF-NH ₂
20		1408	YTGIIYNLLEESQNQQEKNEQEELLELDKWANLWNWF
		1409	Ac-YTSLIYSLLEKSQIQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
		1410	YTSLIYSLLEKSQIQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF
		1411	Ac-EKSQIQQEKNEQEELLELDKWA-NH ₂
		1412	EKSQIQQEKNEQEELLELDKWA
25		1413	Ac-EQAQIQQEKNEYELQKLDKWA-NH ₂
		1414	Ac-YTSLIGSLIEESQIQQERNEQEELLELDRWASLWEWF-NH ₂
		1415	Ac-YTXLIHSLIXESQNQQXKNEQELXELDKWASLWNWF-NH ₂
		1416	Ac-YTXLIHSLIWESQNQQXKNEQELXELD-NH ₂
		1417	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELD-NH ₂
30		1418	Ac-WQEQEXKITALLXQAQIQQXKNEYELXKLDKWASLWEWF-NH ₂
		1419	Ac-XKITALLXQAQIQQXKNEYELXKLDKWASLWEWF-NH ₂
		1420	Ac-WQEWXKITALLXQAQIQQXKNEYELXKLD-NH ₂
		1421	Ac-WEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLD-NH ₂
		1422	Ac-WEXKITALLXQAQIQQXKNEYELXKLD-NH ₂
35		1423	Ac-XKITALLXQAQIQQXKNEYELXKLD-NH ₂
		1425	Ac-QKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLD-NH ₂
		1426	Ac-QKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂

12.03.00

T		
No.	Sekvence	
	1427	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLD-NH ₂
	1428	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLEN-OH
5	1429	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLE-OH
	1430	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELL-OH
	1431	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADEL-OH
	1432	YPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1433	PSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
10	1434	SDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1435	DEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1436	Ac-VYPSDEYDASISQVDEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1437	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEIDQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1438	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLEDV-NH ₂
15	1439	Ac-VYPSDEYDASISQVDEEIDQALAYIRKADELLENV-NH ₂
	1440	Ac-LLSTNKAWSLSNQVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-NH ₂
	1441	Ac-LSTNKAVVSLSNQVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-NH ₂
	1442	Ac-STNKAVVSLSNQVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1443	Ac-TNKAWSLSNQVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
20	1444	Ac-NKAWSLSNQVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1445	Ac-KAWSLSNQVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1446	Ac-AVVSLSNQVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1447	Ac-WSLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQWLLPIV-NH ₂
	144	Ac-VSLSNQVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
25	1449	Ac-SLSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1450	Ac-LSNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1451	Ac-SNGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1452	Ac-NGVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1453	Ac-GVSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
30	1454	Ac-VSVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1455	Ac-SVLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1456	Ac-VLTSTKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1457	Ac-LTSKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1458	Ac-TSKVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
35	1459	Ac-STVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1460	Ac-KVLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1461	Ac-VLDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂
	1462	Ac-LDLKNYIDKQLLP-IV-NH ₂

120300

T	
No.	Sequence
1463	Ac-DLKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNN-NH ₂
1464	Ac-LKNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNR-NH ₂
5 1465	Ac-KNYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRL-NH ₂
1466	Ac-NYIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLL-NH ₂
1467	Ac-YIDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLE-NH ₂
1468	Ac-IDKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLEI-NH ₂
1469	Ac-DKQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLEIT-NH ₂
10 1470	Ac-KQLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITR-NH ₂
1471	Ac-QLLPVINKQSUSISNIETVIEFQQKNNRLLLEITRE-NH ₂
1472	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALA
1473	QVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
1474	VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV
15 1475	Ac-DEYDASISQVNEEINQALAYIREADEL-NH ₂
1476	Ac-DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL-NH ₂
1477	Ac-DDECLNSVKNGTYDFPKFEEESKLNREIKGVKLS-NH ₂
1478	Ac-DDE-Abu-LNSVKNGTYDFPKFEEESKLNREIKGVKLS-NH ₂
1479	Ac-YHKCDDECLNSVKNGTFDFPKFEEESKLNREIKGVKLSS-NH ₂
20 1480	Ac-YHK-Abu-DDE-Abu-LNSVKNGTFDFPKFEEESKLNREIKGV -KLSS-NH ₂
1481	Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
1482	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEYELLELDKWASLWNWF-NH ₂
1483	Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEYELLELDKWASLWNWF-NH ₂
25 1484	Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH ₂
1485	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELQKLDKWASLWNWF-NH ₂
1486	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEYELQKLDKWASLWNWF-NH ₂
1487	Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQEELQKLDKWASLWNWF-NH ₂
1488	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWEWF-NH ₂
30 1489	Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQEELLELDKWASLWEWF-NH ₂
1490	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEYELLELDKWASLWEWF-NH ₂
1491	Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEYELLELDKWASLWEWF-NH ₂
1492	Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
1493	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
35 1494	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
1495	Ac-YTSLIHSLIEESQIQQEKNEQEELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
1496	Ac-WQEQQEQITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKEWWF-NH ₂
1497	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIEWASLWEWF-NH ₂

12.03.02

T		
No.	Sekvence	
	1498	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAKWASLWEWF-NH ₂
	1499	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIKWASLWEWF-NH ₂
5	1500	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWAGLWEWF-NH ₂
	1501	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAKWAGLWEWF-NH ₂
	1502	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIKWAGLWEWF-NH ₂
	1503	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWAGLWAWF-NH ₂
	1504	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLAKWAGLWAWF-NH ₂
10	1505	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIKWAGLWAWF-NH ₂
	1506	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKGEYELQKLDKQEQF-NH ₂
	1507	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKGEYELLELDKWEWF-NH ₂
	1508	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKGEYELQKLAKWENF-NH ₂
	1509	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKGEYELQKLDWQWEF-NH ₂
15	1510	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKGEYELLELAKWEWF-NH ₂
	1511	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELDKWENF-NH ₂
	1512	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELLEELIEWASLWEWF-NH ₂
	1513	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELIEWAGLWEWF-NH ₂
	1514	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELLELIEQAGLWAWF-NH ₂
20	1515	Ac-WQEWEREITALLEQAQIQQEKNEYELQKLIWASLWEWF-NH ₂
	1516	Ac-WQEWEREIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1517	Ac-WQEWEREIQQEKGEYELQKLIWEEWF-NH ₂
	1518	Ac-WQEWQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1519	Ac-WQEWQAQIQQEKGEYELQKLIWEEWF-NH ₂
25	1520	PEG-GWQEWQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDEWASLWEWF-NH ₂
	1521	Ac-GWQEWQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDEWASLWEWF-NH ₂
	1522	PEG-YTSLITALLEQAQIQQERNEQELLELDEWASLWEWF-NH ₂
	1523	Ac-YTSLITALLEQAQIQQERNEQELLELDEWASLWEWF-NH ₂
	1526	PEG-GWQEWQRITALLEQAQIQQERNEYELQELDEWASLWEWF-NH ₂
30	1527	Ac-GWQEWQRITALLEQAQIQQERNEYELQELDEWASLWEWF-NH ₂
	1528	PEG-YTSLIGSLIEESQIQQERNEQELLELDRWASLWEWF-NH ₂
	1529	PEG-GWQEWQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDRWASLWEWF-NH ₂
	1530	Ac-GWQEWQRITALLEQAQIQQERNEYELQRLDRWASLWEWF-NH ₂
	1531	PEG-GWQEWQRITALLEQAQIQQERNEYELQELDRWASLWEWF-NH ₂
35	1532	Ac-GWQEWQRITALLEQAQIQQERNEYELQELDRWASLWEWF-NH ₂
	1533	PEG-YTSLIGSLIEESQNQQERNEQELLELDRWASLWNWF-NH ₂
	1534	Ac-YTSLIGSLIEESQNQQERNEQELLELDRWASLWNWF-NH ₂
	1538	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEK-OH

12.03.02

T		
No.	Sekvence	
	1539	NEQEELLELDK
	1540	WASLWNWF-NH ₂
5	1542	Ac-AAWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1543	Ac-WQEAAAKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1544	Ac-WQEWEQAAAALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1545	Ac-WQEWEQKITAAAEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1546	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYAAAKLDKWASLWEWF-NH ₂
10	1547	Ac-WQEWEQKITALLEQAAAAQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1548	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQAAANEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1549	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAAAELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1550	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYAAAKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1551	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQAAAKWASLWEWF-NH ₂
15	1552	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDAAASLWEWF-NH
	1553	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWAAAAEWF-NH
	1554	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWAAA-NH
	1556	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1557	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
20	1558	Ac-ERTLDFHDS-NH ₂
	1559	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWN(W)F-NH ₂
	1563	Ac-YTSLIHSLIEESQN(Q)QEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1564	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQDKWASLWNWF-NH ₂
	1566	Ac-FYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQKWEDWVGWIGNI-NH ₂
25	1567	Ac-INQTIWNHGNIITLGEWYNQTKDLQQKFYEIIMDIE-NH ₂
	1568	Ac-WNHGNIITLGEWYNQTKDLQQKFYEIIMDIEQNNVQ-NH ₂
	1572	Ac-YTSLIHSLIEESENQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1573	Ac-YTSLIHSLIEESQDQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1574	Ac-YTSLIHSLIEESQNEQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
30	1575	c-TYSLIHSLIEESQNQEEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1576	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKDEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1577	Ac-LGEWYNQTKDLQQKFYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQ-NH ₂
	1578	Ac-WYNQTKDLQQKFYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQK-NH ₂
	1579	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
35	1580	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWDF-NH ₂
	1586	Ac-XTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWX-NH ₂
	1588	Ac-YNQTKDLQQKFYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQK-NH ₂
	1598	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF

12.03.02

T		
No.	Sekvence	
1600	Ac-TLTVQARQLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQAR-NH ₂	
1603	Ac-LQQKFYEIIMDIEQNNVQGKKGIIQQLQKWEDWVGW-NH ₂	
5	1627	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLALDKWASLWNWF-NH ₂
	1628	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLEADKWASLWNWF-NH ₂
	1629	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELAKWASLWNWF-NH ₂
	1630	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKAQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1631	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNAQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
10	1632	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEAEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1634	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEQELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1635	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKAEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1636	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNAYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1637	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEAELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
15	1644	Ac-EYDLRRWEK-NH ₂
	1645	Ac-EQEELLELDK-NH ₂
	1646	Ac-EYELQKLDK-NH ₂
	1647	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEQEELLKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1648	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNEQEELLELDKWASLWEWF-NH ₂
20	1649	Ac-WQEWEQKITALLEQAQIQQEKNDKWASLWEWF-NH ₂
	1650	Ac-YTSLIHSLIEESQNQAQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1651	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQAKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1652	Ac-YTSLIHSLIEESQNQQEANEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1653	Ac-YTSLIHSLIEESANQQEANEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
25	1654	Ac-YTSLIHSLIEESQAQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1655	Ac-YTSLIHSLIEESQNAQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1656	Ac-YTSLIHALIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1657	Ac-YTSLIHAIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1658	Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH ₂
30	1659	Ac-YTSLIHSLAEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1660	Ac-YTSAIHALIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1661	Ac-YTSLAHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1662	Ac-YTSLIASLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1663	Ac-ATSLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
35	1664	Ac-YASLIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1665	Ac-YTALIHSLIEESQNQQEKNEQEELLELDKWASLWNWF-NH ₂
	1666	Ac-RIQDLEKYVEDTKIDLWSYNAELLVALENQ-NH ₂
	1667	Ac-HTIDLTDSEMKNLFKTRRQLREN-NH ₂

12.03.02

T	No.	Sekvence
	1668	Ac-SEMKNLFEKTRRQLREN-NH ₂
	1669	Ac-VFPSDEADASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
5	1670	Ac-VFPSDEFAASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	1671	Ac-VFPSDEFDASISAVNEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	1672	Ac-VFPSDEFDASISQANEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	1673	Ac-VFPSDEFDASISQVAEKINQSLAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	1674	Ac-WQEWQKITAALEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
10	1675	Ac-WQEWQKITALAEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1676	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1677	Ac-WQEWQKITALLEQAQAQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1678	Ac-WQEWQKITALLEQAQIAQEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1679	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQAEKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
15	1680	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSAAFIRKSDELLHNV-NH ₂
	1681	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAAIRKSDELLHNV-NH ₂
	1682	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDEALHNV-NH ₂
	1683	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELAHNV-NH ₂
	1684	Ac-VFPSDEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELLANV-NH ₂
20	1685	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQAKNEYELQKLDKWASLWEWF-NH ₂
	1687	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQALDKWASLWEWF-NH ₂
	1688	Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKADKWASLWEWF-NH ₂

Je třeba rozumět, že peptidy uvedené v tabulce 2 a v příkladu uvedeném v části 11 dále, mají také spadat do rámce předkládaného vynálezu. Jak je uvedeno výše, ty peptidy znázorněné v tabulce 2 a v uvedeném příkladu dále, které již neobsahují zesilující peptidové
5 sekvence (tj. nepředstavují hybridní polypeptidy), mohou být použity spolu se zesilujícími peptidovými sekvencemi a na základě zde uváděných znalostí pro vytváření hybridních polypeptidů. Navíc mohou být polypeptidová jádra a polypeptidová jádra hybridních polypeptidů ukázaná v tabulce 2, obr. 13 a příkladu uvedeném v části 11 níže,
10 použity s kteroukoli ze zesilujících peptidových sekvencí popisovanou v předkládané přihlášce, pro výrobu dalších hybridních polypeptidů, které rovněž spadají do rámce předkládaného vynálezu.

Například peptid DP397, ukázaný v příkladu uvedeném v části 11 představuje polypeptidové jádro, a má spadat do rámce
15 předkládaného vynálezu. Navíc mají do rámce předkládaného vynálezu spadat také hybridní polypeptidy obsahující polypeptidové jádro DP397 plus jednu nebo více popisovaných zesilujících polypeptidových sekvencí.

Je třeba uvést, že i když je v tabulce 2 a obr. 13 uvedena celá
20 řada polypeptidů s modifikovanými, například blokovánými aminovými nebo karboxylovými konci, nebo d-isomerními aminokyselinami (znázorněné zbytky uvnitř závorek), jakýkoli polypeptid obsahující primární aminokyselinovou sekvenci znázorněnou v tabulce 2 a obr. 13 má být rovněž součástí předkládaného vynálezu.

25 Sekvence polypeptidového jádra samy o sobě ukázané v tabulce 2, obr. 13 a uvedeném příkladu v části 11 dále, stejně jako hybridní polypeptidy obsahující tato polypeptidová jádra, mohou mít antivirovou a/nebo antifuzogenní aktivitu a/nebo mohou mít schopnost modulovat intercelulární procesy, kterých se účastní struktury peptidů typu coiled-coil.
30 Navíc mohou být tyto peptidy také používány jako část screeningových metod pro identifikaci sloučenin včetně peptidů

s těmito aktivitami. Mezi sekvencemi polypeptidového jádra jsou například sekvence, které byly odvozeny od jednotlivých sekvencí virových proteinů. Mezi sekvence polypeptidových jader patří také například sekvence, jejichž pořadí aminokyselin je odvozeno od více než jedné sekvence virového proteinu (např. polypeptidová jádra odvozená od HIV-1, HIV-2 a SIV).

Navíc se v těchto polypeptidových jádrech mohou vyskytovat substituce, delece a/nebo inserce aminokyselin, jak je diskutováno výše u zesilujících polypeptidových sekvencí. V případech, kdy polypeptidové jádro má antivirovou a/nebo antifuzogenní aktivitu, nesnižují s výhodou tyto modifikace (buď jako takové nebo jako součást hybridního polypeptidu) tuto aktivitu.

Co se týče delecí aminokyselin, je výhodné, aby získané polypeptidové jádro mělo délku alespoň přibližně 4 až 6 aminokyselinových zbytků. Co se týče insercí aminokyselin, výhodné inserce nejsou delší než přibližně 50 aminokyselinových zbytků, a výhodněji nejsou delší než přibližně 15 aminokyselinových zbytků. Je také výhodné, pokud jsou inserce polypeptidového jádra inserce na aminovém a/nebo karboxylovém konci.

Mezi substitucemi, delecemi a/nebo insercemi aminokyselin v polypeptidovém jádru nebo hybridních polypeptidech podle vynálezu jsou takové, které odpovídají substitucím, delecím a/nebo insercím aminokyselin nalézaným u mutantů, například v přírodě se vyskytujících mutantů, endogenních proteinových sekvencí, ze kterých je konkrétní polypeptidové jádro odvozeno.

Jestliže je například polypeptidové jádro odvozeno od virového proteinu, a toto polypeptidové jádro (buď jako takové nebo jako součást hybridního polypeptidu) má antivirovou účinnost proti dalšímu viru, je možné, že mohou existovat nebo mohou nakonec vzniknout varianty (například variantní kmeny) viru, které mají určitou míru odolnosti proti peptidu co se týče antivirového účinku tohoto peptidu

na kmen viru, ze kterého byla sekvence původního endogenního polypeptidového jádra odvozena.

Pro vytvoření polypeptidových jader, která mají antivirovou účinnost proti těmto rezistentním kmenům virů, mohou být zavedeny
5 modifikace původního polypeptidového jádra. Odborník v oboru může použitím standardních technik zvláště izolovat izoláty rezistentního viru. Určení sekvence, která v rezistentním viru odpovídá původnímu polypeptidovému jádru, může být také rutinně provedeno a sekvence může být porovnána se sekvencí původního polypeptidového jádra.

10 V případě, že se odpovídající sekvence získaná z mutantního, rezistentního kmene, liší od sekvence polypeptidového jádra, mohou být zavedeny modifikace polypeptidového jádra tak, že výsledné modifikované polypeptidové jádro má stejnou sekvenci jako odpovídající oblast v rezistentním viru.

15 Získané modifikované polypeptidové jádro, buď jako takové nebo jako součást hybridního polypeptidu, bude vykazovat antivirové vlastnosti proti kmenu viru, který byl rezistentní na původní polypeptidové jádro. Tyto metody mohou být proto využity pro identifikaci polypeptidových jader, která mají antivirovou účinnost proti
20 kmenům virů, které jsou, nebo které se staly rezistentní na antivirovou aktivitu jiných polypeptidových jader.

Jeden konkrétní, ale neomezující příklad úspěšného použití této metody pro vytvoření modifikovaného polypeptidového jádra, které vykazuje antivirový účinek proti kmenu viru rezistentnímu na
25 „rodičovské“ polypeptidové jádro, se popisuje v příkladu uvedeném dále v části 11.

V jednom provedení jsou taková modifikovaná polypeptidová jádra, která mají antivirový účinek proti kmenům rezistentním k „rodičovským“ polypeptidovým jádrům taková polypeptidová jádra, ve
30 kterých byly zavedeny substituce, inserce a/nebo delece aminokyselin,

které modifikují „rodičovské“ polypeptidové jádro takovým způsobem, že ve výsledném modifikovaném polypeptidovém jádru byla odstraněna konvenční sekvence N-glykosylace nebo O-glykosylace, která byla přítomná v „rodičovském“ polypeptidovém jádru.

5 Například konvenční sekvence pro N-glykosylační místo je -N-X-S/T, kde S/T je buď serin nebo threonin a X je jakákoli aminokyselina kromě prolinu nebo kyseliny asparagové. V jednom provedení může tedy být rodičovské polypeptidové jádro obsahující takovou konvenční sekvenci modifikováno inzercí, substitucí a/nebo delecí aminokyselin
10 tak, že tato konvenční sekvence není v modifikovaném polypeptidovém jádře obsažena.

Mezi těmito aminokoncovými a/nebo karboxykoncovými inzercemi jsou takové, které obsahují aminokyselinové sekvence ve směru amino a/nebo karboxy vzhledem k endogenní proteinové
15 sekvenci, ze které se odvozuje polypeptidové jádro. Jestliže je například polypeptidové jádro odvozeno od proteinu gp41, taková inserce by obsahovala aminokoncovou a/nebo karboxykoncovou inzerci obsahující aminokyselinovou sekvenci gp41 sousedící se sekvencí gp41 polypeptidového jádra. Takové aminokoncové a/nebo
20 karboxykoncové inserce mohou typicky zahrnovat od přibližně 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 nebo 50 aminokyselinových zbytků ve směru amino a/nebo karboxy vzhledem k původnímu polypeptidovému jádru.

Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou ještě dále obsahovat další modifikace, které snadno dovolí detekci polypeptidu.
25 Hybridní polypeptidy mohou být například značeny, buď přímo nebo nepřímou. Způsoby značení peptidů jsou odborníkům v oboru dobře známé, a bez omezení zahrnují radioaktivní, fluorescenční a kolorimetrické techniky. Techniky nepřímého značení jsou rovněž odborníkům v oboru známy a zahrnují bez omezení systém značení
30 biotin/streptavidin a nepřímé značení protilátkami.

Vynález se dále týká asociace zesilujících polypeptidových sekvencí k typům molekul jiným než jsou peptidy. Například zesilující peptidové sekvence mohou být pro účely zesílení farmakokinetických vlastností těchto molekul navázány na molekuly nukleových kyselin (např. DNA nebo RNA) nebo jakýkoli typ malé organické molekuly.

5.2 Syntéza peptidů

Zesilující polypeptidy, polypeptidová jádra a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být syntetizovány nebo připravovány způsoby dobře známými v oboru, viz například Creighton, 1983, *Proteins: Structures and Molecular Principles*, W. H. Freeman and Co, NY, který se zařazuje ve svém celku odkazem. Hybridní polypeptidy mohou být připraveny použitím běžné postupné syntézy v roztoku nebo na pevné fázi, kondenzací fragmentů nebo chemickými reakcemi s využitím Fmoc nebo Boc (viz např. *Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins*, Williams a další, ed., 1997, CRC Press, Boca Raton Florida, a tam uváděné odkazy; *Solid Phase Peptide Synthesis: A Practical Approach*, Atherton & Sheppard, ed., 1989, IRL Press, Oxford, Anglie, a tam uváděné odkazy). Podobně se mohou získávat aminokoncové a/nebo karboxykoncové modifikace.

Tyto metody mohou zahrnovat obecně postupné přidávání jedné nebo více aminokyselin nebo vhodně chráněných aminokyselin k rostoucímu peptidovému řetězci. Obvykle se vhodnou ochrannou skupinou chrání buď aminová nebo karboxylová skupina první aminokyseliny. Chráněná nebo derivatizovaná kyselina potom může být buď navázána na inertní pevný nosič nebo použita v roztoku přidáním další aminokyseliny v řadě s vhodně chráněnou komplementární (aminovou nebo karboxylovou) skupinou, za podmínek vhodných pro vytvoření amidové vazby. Ochranná skupina se potom z tohoto nově přidaného zbytku aminokyseliny odstraní a potom se přidá další aminokyselina (vhodně chráněná) atd. Po

navázání všech požadovaných aminokyselin v patřičném pořadí mohou být zbývající ochranné skupiny a případný pevný nosič odstraněn, buď postupně nebo současně, za získání požadovaného konečného polypeptidu. Jednoduchou modifikací tohoto obecného postupu je možné přidávat k rostoucímu řetězci současně více než jednu aminokyselinu, například navázáním (za podmínek, při kterých nedochází k racemizaci chirálních center) chráněného tripeptidu s vhodně chráněným dipeptidem za vytvoření, po odstranění ochranných skupin, pentapeptidu.

Mezi typické ochranné skupiny patří T-butyloxykarbonyl (Boc), 9-fluorenylmethoxykarbonyl (Fmoc), benzyloxykarbonyl (Cbz), p-toluensulfonyl (Tos); 2,4-dinitrofenyl, benzyl (Bzl), bifenyliisopropoxykarboxykarbonyl, cyklohexyl, isopropyl, acetyl, o-nitrofenylsulfonyl, apod. Z těchto skupin jsou výhodné Boc a Fmoc.

Typické pevné nosiče jsou obecně zesíťované polymerní materiály. Sem patří bez omezení divinylbenzenem zesíťované polymery na bázi styrenu, například kopolymery divinylbenzen-hydroxymethylstyren, kopolymery divinylbenzen-chlormethylstyren a kopolymery divinylbenzen-benzhydrylaminopolystyren. Tyto kopolymery nabízejí výhodu přímého zavádění koncové amidové funkční skupiny do peptidového řetězce, kdy tato funkční skupina se zachová na řetězci při jeho odštěpení od nosiče.

Tímto způsobem mohou být syntetizovány polypeptidy obsahující buď L- nebo D-aminokyseliny.

Složení polypeptidu může být potvrzeno kvantitativní analýzou aminokyselin a specifická sekvence každého peptidu může být zjištěna analýzou sekvence.

Zesilující sekvence, polypeptidová jádra a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být čištěny způsoby známými v oboru, jako je kapalná chromatografie s vysokou účinností s normálními nebo

reverzními fázemi, iontoměničová chromatografie, gelová elektroforéza, afinitní chromatografie, chromatografie typu size exclusion, srážení apod. Skutečné podmínky použité pro čištění konkrétního polypeptidu budou z části záviset na strategii syntézy a na faktorech, jako je celkový náboj, hydrofobnost, hydrofilnost, rozpustnost, stabilita atd., a odborníkům v oboru budou zřejmé.

Hybridní polypeptidy, zesilující polypeptidy a polypeptidová jádra mohou být také vyráběna použitím technik rekombinantní DNA. V tomto případě je možno syntetizovat a/nebo klonovat nukleotidové sekvence kódující polypeptidy podle vynálezu, které mohou být exprimovány způsoby dobře známými odborníkům v oboru, viz například Sambrook, a další, 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, díl 1 - 3, Cold Spring Harbor Press, NY.

Úsek DNA kódující sledovaný polypeptid je možno získat použitím různých molekulárně biologických technik, které jsou známe odborníkům v oboru. Pro vytvoření fragmentu DNA kódujícího sledovaný protein může být například použita polymerázová řetězová reakce (PCR). Alternativně může být fragment DNA získán z komerčního zdroje.

DNA kódující sledované polypeptidy může být rekombinantním způsobem vložena do řady systémů hostitel-vektor, které také poskytují replikaci DNA ve velkém měřítku. Tyto vektory mohou být navrženy tak, aby obsahovaly nezbytné prvky pro řízení transkripce a/nebo translace sekvence DNA kódující hybridní polypeptid.

Vektory, které mohou být použity, zahrnují bez omezení vektory odvozené od rekombinantní bakteriofágové DNA, plasmidové DNA nebo kosmidové DNA. Mohou být například použity plasmidové vektory jako jsou řady vektorů pcDNA3, pBR322, pUC 19/18, pUC 118, 119 a M13 mp. Mezi bakteriofágové vektory mohou patřit řady bakteriofágových vektorů λ gt10, λ gt11, λ gt18-23, λ ZAP/R a EMBL. Jako kosmidové vektory mohou být bez omezení použity řady vektorů

pJB8, pCV 103, pCV 107, pCV 108, pTM, pMCS, pNNL, pHSG274, COS202, COS203, pWE15, pWE16 a charomid 9.

Alternativně je možno zkonstruovat rekombinantní virové vektory obsahující bez omezení vektory odvozené od virů jako je herpetický virus, retroviry, viry vakcinie, adenoviry, viry asociované s adenoviry
5 nebo bovinní papilomavirus, rostlinné viry jako je virus tabákové mozaiky a bakulovirus.

Pro expresi biologicky aktivního polypeptidu musí být nukleotidová sekvence kódující protein vložena do vhodného
10 expresního vektoru, tj. vektoru, který obsahuje nezbytné prvky pro transkripci a translaci vložených kódujících sekvencí. Pro konstrukci expresních vektorů, ve kterých je sekvence kódující hybridní polypeptid operativně spojena s vhodnými signály pro řízení transkripce/translace, mohou být použity metody dobře známé
15 odborníkům v oboru. Mezi tyto metody patří techniky rekombinantní DNA in vitro a syntetické techniky, viz například způsoby popisované v Sambrook, a další, 1992, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, N. Y. a Ausubel a další, 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates & Wiley
20 Interscience, N.Y, z nichž každá je zařazena ve svém celku odkazem.

Molekula nukleové kyseliny kódující hybridní polypeptid, zesilující polypeptid a polypeptidové jádro, o které se zajímáme, může být operativně spojena s řadou různých promotorových/zesilujících
25 prvků. Promotorové/zesilující prvky mohou být zvoleny pro optimalizaci exprese terapeutických množství proteinu. Expresní prvky těchto vektorů se mohou lišit z hlediska jejich síly a specificity. Na základě použitého systému hostitel/vektor je možno použít jakéhokoli z řady vhodných transkripčních a translačních prvků. Promotor může být ve formě promotoru, který je přirozeně asociovaný se sledovaným genem.
30 DNA může být alternativně umístěna pod řízení rekombinantního nebo heterologního promotoru, například promotoru, který není normálně

s tímto genem asociován. Pro řízení exprese převedené DNA ve specifických typech buněk mohou být použity tkáňově specifické promotorové/zesilující prvky.

Příklady oblastí řídících transkripci, které mají tkáňovou specifitu, které byly popsány a mohly by být použity, zahrnují bez omezení kontrolní oblast genu elastázy I, který je aktivní v pankreatických acinárních buňkách (Swift a další, 1984, Cell 38: 639 - 646; Ornitz a další, 1986, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 50: 399 - 409; MacDonald, 1987, Hepatology 7: 42S-51S); řídící oblast inzulinového genu, která je aktivní v buňkách beta pankreatu (Hanahan, 1985, Nature 315: 115 - 122); řídící oblast imunoglobulinového genu, která je aktivní v lymfoidních buňkách (Grosschedl a další, 1984, Cell 38: 647 - 658; Adams a další, 1985, Nature 318: 533 - 538; Alexander a další, 1987, Mol. Cell. Biol. 7: 1436 - 1444); řídící oblast albuminového genu, která je aktivní v játrech (Pinkert a další, 1987, Genes and Devel. 1: 268 - 276); řídící oblast alfa-fetoproteinového genu, která je aktivní v játrech (Krumlauf a další, 1985, Mol. Cell. Biol. 5: 1639 - 1648; Hammer a další, 1987, Science 235: 53 - 58); řídící oblast alfa-1-antitrypsinového genu, která je aktivní v játrech (Kelsey a další, 1987, Genes and Devel. 1: 161 - 171); řídící oblast beta-globinového genu, která je aktivní v myeloidních buňkách (Magram a další, 1985, Nature 315: 338 - 340; Kollias a další, 1986, Cell 46: 89 - 94); řídící oblast bazického proteinu myelinu, která je aktivní v oligodendrocytových buňkách v mozku (Readhead a další, 1987, Cell 48: 703 - 712); řídící oblast genu lehkého řetězce 2 myosinu, která je aktivní v kosterních svalech (Shani, 1985, Nature 314: 283 - 286); a řídící oblast hormonu uvolňujícího gonadotropin, která je aktivní v hypothalamu (Mason a další, 1986, Science 234: 1372 - 1378). Mohou být použity promotory izolované z genomu virů, které rostou v savčích buňkách (např. promotory viru vakcinie 7,5K, SV40, HSV, promotory adenovirů MLP, MMTV, LTR a CMV), stejně jako promotory vytvořené technikami

rekombinantní DNA nebo syntézou. V některých případech mohou být prvky promotoru konstitutivní nebo inducibilní promotory a mohou být použity za vhodných podmínek pro směřování vysoké hladiny řízené exprese sledované nukleotidové sekvence. Exprese genů pod řízením konstitutivních promotorů nevyžaduje přítomnost specifického substrátu pro indukci genové exprese, a bude probíhat za všech podmínek buněčného růstu. Naopak exprese genů řízených inducibilními promotory odpovídá na přítomnost nebo nepřítomnost induktoru.

Pro dostatečnou translaci vložených sekvencí kódujících protein jsou také nezbytné specifické iniciační signály. Mezi tyto signály patří iniciační kodon ATG a sousední sekvence. V případech, kdy jsou do vhodných expresních vektorů vloženy celé kódující sekvence včetně iniciačního kodonu a přilehlých sekvencí, nemusí být nutné žádné další signály řídící translaci. V případech, kdy se vkládá pouze část kódující sekvence, však musí být poskytnuty signály pro řízení exogenní translace včetně iniciačního kodonu ATG. Navíc musí být iniciační kodon ve fázi s čtecím rámcem sekvencí kódujících protein pro zajištění translace celého inzertu. Tyto exogenní signály řízení translace a iniciační kodony mohou být různého původu, přirozeného i syntetického. Účinnost exprese může být zvýšena zavedením transkripčních atenuačních sekvencí, zesilujících prvků apod.

5.3 Použití zesilujících peptidových sekvencí, polypeptidových jader a hybridních polypeptidů podle vynálezu

Jak je diskutováno výše, zesilující peptidové sekvence podle vynálezu mohou být použity ke zlepšení farmakokinetických vlastností kteréhokoli polypeptidového jádra prostřednictvím spojení polypeptidového jádra se zesilujícími peptidovými sekvencemi za vytvoření hybridních polypeptidů. Pozorované zlepšení farmakokinetických vlastností se vztahuje k farmakokinetickým

vlastnostem samostatného polypeptidového jádra. Standardní farmakokinetické charakteristické vlastnosti a způsoby zjištění a charakterizace farmakokinetických vlastností prostředku jako je polypeptid jsou odborníkům v oboru dobře známé. Neomezující příklady těchto metod jsou uvedeny v následující příkladové části.

Zesilující peptidové sekvence podle vynálezu mohou být navíc použity pro zvýšení poločasu polypeptidového jádra, na které byly navázány zesilující peptidové sekvence, in vitro nebo ex-vivo. Zesilující peptidové sekvence mohou například zvýšit poločas navázaných polypeptidových jader, jestliže jsou výsledné hybridní polypeptidy přítomny v buněčné kultuře, tkáňové kultuře nebo vzorcích od pacienta (například vzorky buněk, vzorky tkání z biopsie nebo další vzorky obsahující tělesné tekutiny).

Polypeptidová jádra a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být také využity jako součást metod pro modulaci (například snížení, inhibici, rozbití, stabilizaci nebo zesílení) fuzogenních dějů. Tyto peptidy mají s výhodou antifuzogenní nebo antivirovou aktivitu. Peptidy podle vynálezu mohou také mít schopnost modulovat intracelulární procesy, kterých se účastní peptidové interakce typu coiled-coil.

V konkrétních provedeních mohou být hybridní polypeptidy a polypeptidová jádra podle vynálezu, které mají antivirové účinky, použity jako součást metod pro snížení virové infekce. Tyto antivirové metody mohou být použity například proti lidským retrovirům, zvláště HIV (virus lidské imunodeficiency), např. HIV-1 a HIV-2, a lidským virům T-lymfocytů (HTLV-I a HTLV-II), a jiným než lidským retrovirům, jako je virus bovinní leukózy, viry kočičího sarkomu a leukemie, viry opičí imunodeficiency (SIV), sarkomové a leukemické viry a viry progresivní pneumonie ovcí.

Antivirové metody podle vynálezu mohou být také použity proti neretrovirovým virům, včetně bez omezení viru respiračního syncytia

(RSV), viru psinky, viru newcastleské nemoci, viru lidské parainfluenzy, virů chřipky, virů spalniček, virů Epstein-Barrové, virů hepatitidy B a virů Mason-Pfizer.

Výše uvedené viry jsou viry opatřené obalem. Antivirové metody
5 podle vynálezu mohou být také použity proti virům, které nejsou opatřeny obalem, včetně bez omezení pikornavirů jako jsou polioviry, viru hepatitidy A, enteroviru, echoviru, viru coxsackie, papovavirů jako je papillomavirus, parvovirů, adenovirů a reovirů.

Další antifuzogenní aktivity, které mohou být modulovány
10 metodami využívajícími peptidy podle vynálezu, zahrnují bez omezení modulaci výměny neuronových přenašečů prostřednictvím buněčné fúze, a fúze spermie-vajíčko. Mezi intracelulárními poruchami, kterých se účastní interakce typu coiled-coil, které mohou být odstraněny způsoby využívajícími peptidy podle vynálezu, jsou poruchy s účastí
15 například bakteriálních toxinů.

Antifúzní nebo antivirová aktivita daného polypeptidového jádra
nebo hybridního polypeptidu může být rutinně zjišťována standardními
testy in vitro, ex vivo a na zvířecích modelech, které mohou být
vzhledem k antivirové aktivitě pro sledovaný virus specifické nebo
20 částečně specifické, a které jsou dobře známé odborníkům v oboru.

Výše uvedený popis se týká hlavně antivirových a s antifúzními
účinky souvisejících aktivit polypeptidových jader a hybridních
polypeptidů podle vynálezu. Hybridní polypeptidy podle vynálezu
mohou být také použity jako součást jakékoli metody, při které může
25 být uvažováno podávání nebo použití samotného polypeptidového
jádra. Použití hybridních polypeptidů jako součást těchto metod je
zvláště výhodné v případech, kdy se požaduje zlepšení
farmakokinetických vlastností polypeptidového jádra. Například inzulin
se používá jako součást léčby některých typů diabetu. Hybridní
30 polypeptid obsahující inzulin nebo fragment inzulinu jako
polypeptidové jádro může být proto také použit jako součást metod

odstranění příznaků těch forem diabetu, u kterých se používá a/nebo uvažuje použití inzulinu.

Navíc k výše popsaným léčebným metodám mohou být peptidy podle vynálezu ještě dále použity jako součást prognostických metod pro prevenci stavů, včetně bez omezení poruch zahrnujících fúzní děje, intracelulárních procesů zahrnujících peptidy typu coiled-coil a virových infekcí, kterých se účastní fúze buňka-buňka a/nebo virus-buňka. Například polypeptidové jádro a hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být použity jako součást preventivních metod pro prevenci virové infekce.

Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být ještě dále použity jako součást diagnostických metod. Tyto metody mohou být buď metody in vivo nebo in vitro. S použitím hybridního polypeptidu obsahujícího polypeptidové jádro a modifikaci primární aminokyselinové sekvence umožňující detekci hybridního polypeptidu může být také provedena jakákoli diagnostická metoda, při které je možno použít určitého polypeptidového jádra. Tyto techniky mohou odrážet zlepšení vzhledem k diagnostickým metodám v tom, že samotné zvýšení poločasu hybridního polypeptidu vzhledem k poločasu samostatného polypeptidového jádra může zvýšit citlivost diagnostického postupu, při kterém se používá. Mezi tyto diagnostické postupy patří bez omezení zobrazovací metody, například metody zobrazování in vivo. V neomezujícím příkladu zobrazovací metody může být detekována struktura, která se váže na polypeptidové jádro hybridního polypeptidu, prostřednictvím vazby hybridního polypeptidu a zobrazení (buď přímého nebo nepřímého) navázaného hybridního polypeptidu.

5.4 Farmaceutické prostředky, dávkování a způsoby podávání

Peptidy podle vynálezu mohou být podávány použitím způsobů dobře známých odborníkům v oboru. Prostředky se s výhodou formulují a podávají systémově. Způsoby formulace a podávání je možno nalézt v publikaci „Remington's Pharmaceutical Sciences“, poseltní vydání, Mack Publishing Co, Easton, PA. Mezi vhodné způsoby mohou patřit orální, rektální, vaginální, plicní (například inhalační), transdermální, transmukosální nebo intestinální podávání; parenterální podávání včetně intramuskulárních, subkutánních a intramedulárních injekcí, stejně jako intrathekálních, přímých intraventrikulárních, intravenózních, intraperitoneálních, intranazálních nebo intraokulárních injekcí, pokud uvádíme pouze příklady. Pro intravenózní injekci mohou být prostředky podle vynálezu formulovány ve vodných roztocích, s výhodou ve fyziologicky kompatibilních pufrech jako je Hanksův roztok, Ringerův roztok, nebo fyziologickém solném roztoku, pokud uvádíme jenom některé. Navíc mohou být pro dodávání peptidů podle vynálezu používány infuzní pumpy. Pro transmukosální podávání se ve formulaci používají penetrační prostředky pro usnadnění pronikání bariérou. Tyto penetrační prostředky jsou v oboru obecně známé.

V případech, kdy je výhodné intracelulární podávání peptidů podle vynálezu nebo jiných inhibičních prostředků, mohou být použity techniky dobře známé odborníkům v oboru. Takové prostředky mohou být například zapouzdřené do liposomů nebo mikrosfér a potom podávány jak bylo popsáno výše. Liposomy jsou kulové lipidické dvojvrstvy s vodnou fází uvnitř. Všechny molekuly přítomné ve vodném roztoku v době vytváření liposomu jsou do této vodné vnitřní části zahrnuty. Obsahy liposomů jsou jak chráněné před vnějším mikroprostředím, tak i účinně dodávány do buněčné cytoplasmy, protože liposomy fúzí s buněčnými membránami. Navíc v důsledku

jejich hydrofobičnosti, pokud se mají podávat malé molekuly, je možno dosáhnout přímého intracelulárního podávání.

5 Nukleotidové sekvence kódující peptidy podle vynálezu, které se mají podávat intracelulárně, mohou být exprimovány ve sledovaných buňkách s použitím technik dobře známých odborníkům v oboru. Pro
10 dodávání a expresi těchto nukleotidových sekvencí do populace cílových buněk mohou být například použity expresní vektory odvozené od virů jako jsou retroviry, viry vakcinie, viry asociované s adenoviry, herpetické viry nebo bovinní papilomaviry. Způsoby konstrukce těchto vektorů a expresních konstruktů jsou dobře známe,
viz například Sambrook a další, 1989, Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor NY, a Ausubel a další, 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Green Publishing Associates a Wiley Interscience, NY.

15 Účinné dávky peptidů podle vynálezu vhodné pro podávání mohou být zjištěny způsoby dobře známými v oboru, které se týkají parametrů jako biologický poločas, biologická dostupnost a toxicita. Ve zvláště výhodných provedeních určuje odborník v oboru účinné rozmezí dávek hybridního polypeptidu použitím údajů z rutinních studií
20 in vitro a in vivo, které jsou dobře známé odborníkům v oboru. Například testy antivirové aktivity na buněčných kulturách in vitro, jako jsou testy uváděné pro T1249 jako příklady v části 7 dále, budou poskytovat údaje, ze kterých může odborník v oboru snadno určit střední inhibiční koncentraci (IC) peptidu nebo polypeptidu nutného
25 pro blokování určitého množství infekční schopnosti viru (např. 50 %, IC₅₀; nebo 90 %, IC₅₀). Vhodné dávky je potom možno zvolit použitím farmakokinetických údajů z jednoho nebo více rutinních modelů na zvířatech, jako jsou farmakokinetické údaje popisované jako příklady v části 10 níže, pro T1249, takže se získá minimální koncentrace
30 peptidu v plasmě (C_{min}), která je rovná nebo která je vyšší než je zjištěná hodnota IC.

Příklady dávek polypeptidu mohou být již 0,1 µg/kg tělesné hmotnosti a až 10 µg/kg tělesné hmotnosti. Výhodnější rozmezí účinných dávek je od 0,1 do 100 µg/kg tělesné hmotnosti. Další příklady dávek peptidů podle vynálezu zahrnují 1 až 5 mg, 1 až 10 mg, 1 až 30 mg, 1 až 50 mg, 1 až 75 mg, 1 až 100 mg, 1 až 125 mg, 1 až 150 mg, 1 až 200 mg, nebo 1 až 250 mg peptidu. Terapeuticky účinná dávka označuje takové množství sloučeniny, které je dostatečné pro dosažení odstranění příznaků nebo pro prodloužení přežití u pacienta. Toxicitu a terapeutickou účinnost těchto sloučenin je možno zjistit standardními farmaceutickými postupy v buněčných kulturách nebo experimentálních zvířatech, například pro zjištění LD₅₀ (dávka smrtelná pro 50 % populace) a ED₅₀ (dávka terapeuticky účinná pro 50 % populace). Poměr dávek mezi toxickým a terapeutickým účinkem je terapeutický index a může být vyjádřen jako poměr LD₅₀/ED₅₀. Výhodné jsou sloučeniny, které mají větší terapeutické indexy. Data získaná z těchto testů na buněčných kulturách a studií na zvířatech mohou být použita pro formulaci rozmezí dávek pro použití u lidí. Dávky těchto sloučenin jsou s výhodou v rozmezích koncentrací v oběhu, které zahrnují ED₅₀ s malou nebo žádnou toxicitou. Dávka se může v tomto rozmezí lišit v závislosti na použité dávkové formě a způsobu podávání. Pro jakoukoli sloučeninu používanou při způsobu podle vynálezu se bude terapeuticky účinná dávka na počátku odhadovat na základě testů na buněčné kultuře. Dávka může být formulována na zvířecích modelech pro dosažení rozmezí koncentrací v cirkulující plasmě, které zahrnuje IC₅₀ (např. koncentrace testované sloučeniny, která poskytne polovinu maximální inhibice fuzogenního děje, jako je polovina maximální inhibice virové infekce vzhledem k míře takového děje v nepřítomnosti testované sloučeniny) při zjišťování v buněčné kultuře. Tyto informace mohou být použity pro přesnější určení použitelných dávek u člověka. Hladiny v plasmě mohou být měřeny například vysokoúčinnou kapalinovou

chromatografií (HPLC) nebo jakýmkoli biologickým nebo imunologickým testem schopným měřit hladiny peptidů.

Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být podávány jednorázově, přerušovaně, periodicky nebo kontinuálně. Polypeptidy
5 podle vynálezu mohou být například podávány při jediném podání, jako je jediná subkutánní injekce, jediná intravenózní infuze nebo jediné spolknutí. Polypeptidy podle vynálezu mohou být také podávány ve větším počtu přerušovaných podávání, včetně periodických podávání. V některých provedeních mohou být například polypeptidy
10 podle vynálezu podávány jednou týdně, jednou denně, dvakrát denně (např. každých 12 hod), každých 6 hodin, každé 4 hodiny, každé 2 hodiny nebo každou hodinu. Polypeptidy podle vynálezu mohou být také podávány kontinuálně, jako například kontinuální subkutánní nebo intravenózní infúzní pumpou, nebo pomocí subkutánního nebo
15 jiného implantátu, který dovolí kontinuální absorpci polypeptidů tělem pacienta.

Hybridní polypeptidy podle vynálezu mohou být také podávány v kombinaci s alespoň jedním dalším léčebným prostředkem. Ačkoli to
nění pro terapii HIV výhodné, může se provádět podávání jiných typů
20 léčení (například protirakovinné terapie) současně nebo postupně, včetně cyklického léčení (tj. podávání první sloučeniny po určité časové období a následné podávání druhé antivirové sloučeniny po určité časové období, a opakování tohoto postupného podávání s cílem snížit vyvinutí rezistence na některé z těchto léčení.

25 V případě virových, například retrovirových infekcí, se může účinné množství hybridního polypeptidu nebo jeho farmaceuticky přijatelného derivátu podávat v kombinaci s alespoň jedním, s výhodou alespoň dvěma jinými antivirovými prostředky.

Pokud jako příklad vezmeme infekci HIV, tyto antivirové
30 prostředky mohou bez omezení zahrnovat DP-107 (T21), DP178 (T20), jakékoli jiné polypeptidové jádro znázorněné v tabulce 2

odvozené z HIV-1 nebo HIV-2, jakýkoli jiný hybridní polypeptid, jehož polypeptidové jádro je alespoň z části odvozené od HIV-1 nebo HIV-2, cytokiny, například rIFN α , rIFN β , rIFN γ ; inhibitory reverzní transkriptázy včetně nukleosidových a nenukleosidových inhibitorů, např. AZT, 3TC, D4T, ddI, adefovir, abakavir a další dideoxynukleosidy nebo dideoxyfluoronukleosidy, nebo delaviridin-mesylát, nevirapin, efavirenz; inhibitory úpravy virové mRNA čepičkou, jako je ribavirin; inhibitory HIV proteázy, jako je ritonavir, nelfinavirmesylát, amprenavir, sakvinavir, sakvinavirmesylát, indinavir nebo ABT378, ABT538 nebo MK639; amfotericin B jako molekula vázající lipid s anti-HIV aktivitou; a kastanospermin jako inhibitor úpravy v buňkách (procesingu) glykoproteinů.

Hybridní polypeptidy a/nebo polypeptidová jádra podle vynálezu mohou být dále využívány profylakticky pro prevenci onemocnění. Hybridní polypeptidy a/nebo polypeptidová jádra mohou působit přímo pro zabránění onemocnění, nebo mohou být alternativně použity jako vakcíny, kde hostitel vytváří protilátky proti hybridním polypeptidům podle vynálezu, které potom slouží pro neutralizaci patogenních organismů včetně například inhibice virové, bakteriální a parazitické infekce.

Pro všechna tato léčení popisovaná výše může být zvolena přesná formulace, způsob podávání a dávkování jednotlivým ošetřujícím lékařem podle pacientova stavu (viz např. Fingl a další, 1975, v „The Pharmacological Basis of Therapeutics“, kap. 1, str. 1).

Je třeba uvést, že ošetřující lékař by věděl, jak a kdy ukončit, přerušit nebo upravit podávání z hlediska toxicity nebo poruchy funkce orgánů. Naopak ošetřující lékař by také věděl, jak upravit léčení pro zvýšení klinické odpovědi tam, kde není odpovídající (a vyhnout se toxicitě. Velikost podané dávky při zvládání onkogenního onemocnění bude záviset na vážnosti léčeného stavu a způsobu podávání. Dávka a patrně i počet dávek se také budou lišit v závislosti na věku, tělesné

hmotnosti a reakci jednotlivého pacienta. Ve veterinárním lékařství může být použit program srovnatelný s výše diskutovaným programem.

Do rámce předkládaného vynálezu také patří použití farmaceuticky přijatelných nosičů pro formulaci zde popisovaných
5 sloučenin pro provádění vynálezu do dávkových forem vhodných pro systémové podávání. Při správném výběru nosiče a vhodném provádění výroby mohou být sloučeniny podle předkládaného vynálezu, zvláště sloučeniny formulované jako roztoky, podávány parenterálně, jako je subkutánní injekcí, intravenózní injekcí,
10 subkutánní infuzí nebo intravenózní infuzí, například infuzní pumpou. sloučeniny mohou být snadno formulovány použitím farmaceutických nosičů, dobře známých v oboru, na dávkové formy vhodné pro orální podávání. Tyto nosiče umožní formulaci sloučenin podle vynálezu do formy tablet, pilulek, kapslí, kapalin, gelů, sirupů, kaší, suspenzí
15 apod., pro orální přijímání léčeným pacientem.

Mezi farmaceutické prostředky vhodné pro použití v předkládaném vynálezu patří prostředky, ve kterých jsou obsaženy účinné složky v účinném množství pro dosažení zamýšleného účelu. Zjištění účinných množství spadá do schopnosti odborníka v oboru,
20 zvláště z hlediska zde poskytovaného podrobného popisu.

Navíc k účinným složkám mohou tyto farmaceutické prostředky obsahovat vhodné farmaceuticky přijatelné nosiče obsahující excipienty a pomocné látky umožňující zpracování účinných sloučenin do prostředků, které mohou být farmaceuticky použity. Prostředky
25 formulované pro orální podávání mohou být ve formě tablet, dražé, kapslí nebo roztoků. Pro orální podávání peptidů jsou dobře známy v oboru způsoby, které se například používají firmou Emisphere Technologies, které mohou být rutinně používány.

Farmaceutické prostředky podle předkládaného vynálezu mohou
30 být vyráběny způsobem, který je sám o sobě znám, například pomocí běžného mísení, rozpouštění, granulace, výroby dražé, roztírání,

rozprašovacího sušení, emulgace, zapouzďování, zachycování nebo lyofilizace.

Farmaceutické prostředky pro parenterální podávání zahrnují vodné roztoky účinných složek ve formě rozpustné ve vodě. Navíc
5 mohou být připraveny emulze a suspenze účinných složek ve formě vhodných olejových injekčních směsí. Mezi vhodná lipofilní rozpouštědla nebo vehikula patří mastné oleje jako je sezamový olej, nebo syntetické estery mastných kyselin, jako je ethyloleát nebo triglyceridy, liposomy nebo jiné látky známé v oboru pro výrobu
10 lipidových nebo lipofilních emulzí. Vodné injekční suspenze mohou obsahovat látky, které zvyšují viskozitu suspenze, jako je sodná sůl karboxymethylcelulózy, sorbitol nebo dextran. Suspenze může také popřípadě obsahovat vhodné stabilizátory nebo látky zvyšující rozpustnost sloučenin pro umožnění přípravy vysoce koncentrovaných
15 roztoků.

Farmaceutické prostředky pro orální použití mohou být získány kombinací účinných sloučenin s pevnou pomocnou látkou, popřípadě rozdrcením výsledné směsi a zpracováním směsi granulí po přidání vhodných pomocných látek v případě potřeby za získání tablet nebo
20 jader dražé. Vhodné pomocné látky jsou zvláště plniva jako jsou cukry včetně laktózy, sacharózy, trehalózy, mannitolu nebo sorbitolu; celulóзовé preparáty jako je například kukuřičný škrob, pšeničný škrob, rýžový škrob, bramborový škrob, želatina, tragakantová guma, methylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza, sodná sůl
25 karboxymethylcelulózy a/nebo polyvinylpyrrolidon (PVP). V případě potřeby mohou být přidána rozvolňovadla, jako je zesíťovaný polyvinylpyrrolidon, agar, nebo alginová kyselina nebo její sůl, jako je alginát sodný.

Jádra dražé jsou opatřena vhodnými povlaky. K tomuto účelu
30 mohou být použity koncentrované cukerné roztoky, které mohou popřípadě obsahovat arabskou gumu, talek, polyvinylpyrrolidon,

karbopolový gel, polyethylenglykol a/nebo oxid titaničitý, roztoky laků a vhodná organická rozpouštědla nebo směsi rozpouštědel. Do povlaků tablet nebo dražé mohou být přidávány barevné látky nebo pigmenty pro identifikaci nebo charakterizaci různých kombinací dávek aktivní
5 sloučeniny.

Farmaceutické prostředky, které mohou být použity orálně, zahrnují zasunovací kapsle vyrobené z želatiny, stejně jako měkké, uzavřené kapsle, vyrobené ze želatiny a plastifikátoru, jako je glycerol nebo sorbitol. Zasunovací kapsle mohou obsahovat účinné složky ve
10 směsi s plnivem jako je laktóza, pojivy jako jsou škroby a/nebo kluznými látkami jako je talek nebo stearan hořečnatý, a popřípadě stabilizátory. V měkkých kapslích mohou být účinné sloučeniny rozpuštěny nebo suspendovány ve vhodných kapalinách, jako jsou mastné oleje, parafinový olej nebo kapalné polyethylenglykoly. Navíc
15 mohou být přidány stabilizátory.

V případech, kdy je žádoucí zesílení imunitní odpovědi hostitele, mohou být hybridní polypeptidy formulovány s vhodným adjuvans pro zvýšení imunologické odpovědi. Mezi tato adjuvans mohou bez omezení patřit minerální gely jako je hydroxid hlinitý; povrchově aktivní
20 látky jako je lysolecithin, pluronové polyoly, polyanionty; jiné peptidy; olejové emulze; a potenciálně použitelná adjuvans jako je BCG a Corynebacterium parvum. Pro zavádění vakcín popisovaných výše mohou být použity různé způsoby. Mezi tyto způsoby patří bez omezení orální, intradermální, intramuskulární, intraperitoneální,
25 intravenózní, subkutánní a intranazální způsoby.

Příklady provedení vynálezu

6. Příklad

Identifikace konvenčních aminokyselinových sekvencí, které obsahují zesilující peptidové sekvence

5 Retrovirový protein gp41 obsahuje strukturní domény označované jako oblast α -šroubovice, umístěné v C-koncové oblasti proteinu, a oblast leucinového zipu umístěnou v N-koncové oblasti proteinu. Porovnání oblastí zesilující peptidové sekvence obsažených v gp41 (obr. 2A a 2B) z gp41 ze všech dosud publikovaných
10 izolovaných sekvencí HIV-1, HIV-2 a SIV identifikovalo konvenční aminokyselinové sekvence ukázané v obr. 1.

Jak je popsáno podrobně v dále uvedených příkladech, tyto sekvence reprezentují zesilující peptidové sekvence v tom, že vazba těchto peptidových sekvencí na celou řadu různých polypeptidových
15 jader zlepšuje farmakokinetické vlastnosti výsledných hybridních polypeptidů.

7. Příklad

Hybridní polypeptidy, které fungují jako silné inhibitory infekce HIV-1

20 T1249, tak jak je znázorněn na obr. 13, je hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidové sekvence navázané na polypeptidové jádro HIV. Jak je uvedeno dále, hybridní polypeptid T1249 má zlepšené farmakokinetické vlastnosti a silnou aktivitu *in vitro* proti izolátům HIV-1, HIV-2, a SIV, se zlepšenou účinností proti klinickým
25 izolátům HIV-1 v testech infekčnosti HuPBMC *in vitro* stejně jako v myším modelu HuPBMC SCID infekce HIV-1 *in vivo*. V dále popisovaných biologických testech se aktivita T1249 porovnává s účinným antivirovým polypeptidem T20. Polypeptid T20, který je také

známý jako DP-178, je odvozený z proteinové sekvence gp41 HIV-1 a popisuje se a nárokuje v US patentu No. 5,464,933.

7.1 Materiály a metody

5 7.1.1 Syntéza a čištění peptidů

Peptidy byly syntetizovány pomocí chemických reakcí typu Fast Moc. Obecně, pokud není uvedeno jinak, obsahovaly peptidy amidované karboxylové konce a acetylované aminové konce. Čištění bylo prováděno HPLC s reverzními fázemi.

10 T1249 (Ac-WQEWQKITALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASL-WEWF-NH₂) je peptid o délce 39 aminokyselin (M_h = 5036,7), který se skládá výlučně z aminokyselin vyskytujících se v přírodě a je na aminovém konci blokován acetylovou skupinou, a karboxylový konec je blokován amidovou skupinou pro zvýšení stability. T1387 je peptid
15 o délce 23 aminokyselin postrádající zesilující peptidové sekvence (Ac-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK-NH₂). T1387 tedy představuje polypeptidové jádro hybridního polypeptidu T1249. T1387 je na aminovém a karboxylovém konci blokován stejným způsobem jako T1249.

20 T1249 byl konkrétně syntetizován použitím standardních podmínek syntézy na pevné fázi. Identita hlavního vrcholu záznamu HPLC byla potvrzena hmotnostní spektroskopií jako T1249.

T1249 byl snadno vyčištěn chromatografií s reverzními fázemi na koloně 15,2 cm naplněné nosičem C18, 10 µm, 120Å.

25

7.1.2 Virus

Virus HIV-1_{LAI} (Popovic, M. a další, 1984, Science 224: 497 - 508) byl pomnožen v buňkách CEM kultivovaných v médiu RPMI 1640 s obsahem 10% fetálního telecího séra. Supernatant z infikovaných

buněk CEM byl protlačen filtrem 0,2 μm a infekční titr byl určen mikroinfekčním testem použitím buněčné linie AA5, aby se podpořila replikace viru. K tomuto účelu bylo 20 μl sériově zředěného viru přidáno ke 20 μl buněk CEM v koncentraci $6 \times 10^5/\text{ml}$ v 96-jamkové mikrotitrační destičce. Každé ředění viru bylo testováno v triplicátu. Buňky byly kultivovány 7 dnů přidáváním čerstvého média každý druhý den. Sedm dnů po infekci byly vzorky supernatantu testovány na replikaci viru, jejímž důkazem byla aktivita reverzní transkriptázy uvolňovaná do supernatantu. Byla vypočtena hodnota TCID₅₀ pomocí vzorce podle Reeda a Muencha (Reed, L. J. a další, 1938, Am. J. Hyg. 27: 493 - 497).

7.1.3 Test buněčné fúze

Přibližně 7×10^4 buněk Molt-4 bylo inkubováno s 1×10^4 buněk CEM chronicky infikovaných buňkami HIV-1_{LAI} v 96-jamkových destičkách pro tkáňové kultivace v konečném objemu 100 μl kultivačního média (RPMI 1640 obsahující 10% teplem inaktivované FBS, doplněné 1% L-glutaminem a 1% Pen-Strep), jak bylo popsáno dříve (Matthews, T. J., a další, 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 5424 - 5428). Peptidové inhibitory byly přidávány v objemu 10 μl a buněčné směsi byly inkubovány 24 hod při 37 °C v 5% CO₂. V tomto čase byly počítány vícejaderné obří buňky (syncytia, šířka pěti buněk nebo větší) mikroskopickým vyšetřením při zvětšení 10 x a 40 x, které umožnilo vizualizaci celé jamky v jediném poli. Ošetřené buňky byly porovnávány s infikovanými, neošetřenými kontrolami, a výsledky byly vyjádřeny jako procento inhibice infikovaných kontrol.

7.1.4 Testy infekčnosti MAGI-CCR-5

Přibližně 1×10^6 buněk Magi-CCR-5 (získaných prostřednictvím NIH AIDS Research and Reference Reagent Program, Division of

AIDS, NIAID; Chackerian, B., a další, 1997, J. Virol. 71: 3932 - 3939) bylo zaočkováno do 48-jamkové destičky pro tkáňovou kultivaci (přibližně 2×10^4 buněk/jamku v objemu 300 μ l/jamku selektivního růstového média obsahujícího DMEM doplněné 10 % teplem inaktivovaného FBS, 1 % L-glutaminu, 1 % Pen/Strep, hygromycinem B, geneticinem a puromycinem) a ponecháno přichytit přes noc při 37 °C, 5 % CO₂. Do následujícího dne bylo dosaženo konfluence buněk přibližně 30 %. Očkovací médium bylo odstraněno a byl přidán zředěný peptidový inhibitor v objemech 50 μ l/jamku (u neošetřených kontrol pouze média) a potom 100 μ l/jamku zředěného viru (požadovaný vstupní titr viru 100 až 200 pfu/jamku). Nakonec bylo do každé jamky přidáno 250 μ l selektivního růstového média a destička byla inkubována 2 dny při 37 °C, 5% CO₂. Fixace a barvení byly prováděny podle protokolu poskytnutého NIAID pro buňky MAGI-CCR5. Ve stručnosti, médium bylo z destičky odstraněno a do každé jamky bylo přidáno 500 μ l fixačního roztoku. Destičky byly ponechány fixovat 5 min při teplotě místnosti. Fixační roztok byl odstraněn, každá jamka byla dvakrát promyta DPBS, a do každé jamky bylo přidáno 200 μ l barvicího roztoku. Destička byla potom inkubována při 37 °C, 5% CO₂, 50 min, byl odstraněn barvicí roztok a každá jamka byla dvakrát promyta DPBS. Destička byla ponechána sušit na vzduchu před počítáním modrých buněk pod mikroskopem pro celou jamku. Ošetřené jamky byly porovnávány s infikovanými, neošetřenými kontrolami, a výsledky byly vyjádřeny jako procenta inhibice infikovaných kontrol.

7.1.5 Test na reverzní transkriptázu

Mikrotest na reverzní transkriptázu (RT) byl upraven z Goff a další (Goff, S. a další, 1981, J. Virol. 38: 239 - 248) a Willey a další (Willey, R. a další, 1988, J. Virol. 62: 139 - 147). Supernatanty z kultur virů/buněk byly upraveny na koncentraci 1% Triton-X100. 10 μ l

každého vzorku supernatant/Triton X-100 bylo přidáno k 50 μ l koktejlu RT (75 mM KCl, 2 mM Clevelandsovo činidlo, 5 mM $MgCl_2$, 5 μ g/ml poly A, 0,25 jednotek/ml oligo dT, 0,05% NP40, 50 mM Tris-HCl, pH 7,8, 0,5 μ M neradioaktivní dTTP, a 10 cCi/ml ^{32}P -dTTP) v 96-jamkové mikrotitrační destičce s U-dnem a destičky byly inkubovány při 37 °C 90 min. Po inkubaci bylo 40 μ l reakční směsi z každé jamky převedeno do zařízení Schleicher a Schuell (S+S) dot blot apparatus, v částečném vakuu, nesoucího mřížkou rozdělenou 96-jamkovou filtrační vrstvu (Wallac catalog # 1450 - 423) a filtrační podložku nasycenou pufrům 2 x SSC (0,3 M NaCl a 0,003 M citran sodný). Každá jamka byla čtyřikrát promyta alespoň 200 μ l 2 x SSC při plném vakuu. Zařízení bylo rozloženo a filtrační papír rozdělený mřížkou byl odstraněn a třikrát promyt pufrům 2 x SSC. Nakonec byla filtrační membrána odsáta na absorpčním papíře, ponechána usušit na vzduchu a byla uzavřena v zatavovacích sáčcích. Vzorky byly umístěny v kazetě s fosforeskujícím stínítkem a bylo přiloženo vymazané (alespoň 8 min) fosforeskující stínítko a kazeta byla uzavřena. Expozice trvala 16 hod. Hodnoty Pixel Index Values (PIV) vytvořené ve formátu „volume reporting format“ získaném z přenosů zobrazování s použitím fosforescence (Molecular Dynamics Phosphorimager) byly použity pro zjištění ovlivněné nebo inhibované frakce (Fa) pro všechny dávky inhibitoru nebo inhibitorů při porovnání s neošetřenými infikovanými kontrolami (analýza programem ImageQuant volume report, korekce na pozadí).

25

7.1.6 Test infekčnosti/neutralizace na lidských PBMC

Tento prototypový test používal buněčné linie, kde test primárního izolátu využívá PBMC získané od Interstate Blood Bank, aktivované 2 až 3 dny kombinací protilátek OKT3 (0,5 μ g/ml) a CD28 (0,1 μ g/ml). Cílové buňky byly naneseny na médium pro separaci lymfocytů (LSM), promyty a zmrazeny. Buňky byly ponechány podle

30

potřeby roztát a byly aktivovány jak bylo uvedeno výše minimálně 2 až 3 dny před testem. V tomto testu v 96-jamkovém formátu byly buňky v koncentraci $2 \times 10^6/\text{ml}$ v 5% médiu IL-2 a konečném objemu 100 μl . Zásobní roztoky peptidu byly připraveny v DBPS (1 g/ml). Ředění
5 peptidu byla prováděna v kompletním médiu RPMI 1640 s 20 % FBS/5 % IL-2.

7.1.7 Model infekce HIV-1 in vivo na myších SCID HuPBMC

Samice myši SCID (stáří 5 až 7 týdnů) dostaly 5 až 10×10^7
10 PBMC z dospělých lidí intraperitoneální injekcí. O dva týdny později byly myši infikovány i.p. v den 0 10^3 TCID₅₀ HIV-1 9320 (izolát A018 citlivý na AZT). Léčení peptidy probíhalo i.p., dvakrát denně, počínaje dnem -1, a pokračovalo až do šestého dne. Míra infekce krevních buněk, splenocytů, lymfatických uzlin a peritoneálních buněk byla
15 zjišťována kvantitativní společnou kultivací s lidskými blasty PBMC týdně po tři za sebou následující týdny po odběru vzorků krve a tkání (den 7, přibližně 12 až 18 hod po posledním podání léčiva). Supernatanty ze společné kultivace byly vyhodnocovány na produkci antigenu HIV-1 p24 jako měřítko infekce virem (kity a protokol
20 Immunotek Coulter).

7.1.8 Farmakokinetické studie na kryších

Byly použity samci krysy CD o hmotnosti 250 až 300 g s dvojitým jugulárním katétre, získaní od firmy Charles River Laboratories.
25 Peptidy byly vstříkovány do jednoho jugulárního katétru v objemu 200 μl roztoku peptidu (přibližně 3,75 mg/ml), koncentrace dávkovacího roztoku byla zjišťována Edelhochovou metodou (Edelhoch, 1967, Biochemistry 6: 1948 - 1954) a upravena na základě hmotnosti zvířat tak, že každé zvíře dostalo dávku 2,5 mg/kg).
30 Přibližně 250 až 300 μl krve bylo odebíráno v určených časových

intervalech (0, 15, 30 min a 1, 2, 4, 6 a 8 hod) a uchováváno ve zkumavkách EDTA capiject. Z usazených buněk po centrifugaci byla odebrána plasma, která byla buď zmražena nebo ihned zpracována na analýzu fluorescenční HPLC.

5

7.1.9 Analýza vzorků plasmy fluorescenční HPLC

100 μ l vzorku plasmy bylo přidáno k 900 μ l srážecího pufru (acetonitril, 1,0% TFA, detergent), což vedlo k vysrážení většiny plasmatických proteinů. Po centrifugaci 10 000 ot/min 10 min bylo
10 odebráno 400 μ l supernatantu a přidáno k 600 μ l vody pro HPLC. Podle koncentrace peptidu přítomného v každém vzorku byla prováděna sériová ředění v ředicím pufru složeném ze 40 % srážecího pufru a 60 % vody pro HPLC. Navíc k ředěním vzorku byla prováděna sériová ředění dávkovacího roztoku v pufru stejně jako v plasmě
15 a použita pro vytvoření standardní křivky závislosti plochy vrcholu na známé koncentraci peptidu. Tato křivka byla potom použita pro výpočet koncentrace peptidu v plasmě, přičemž se brala v úvahu všechna provedená ředění a množství nastříkované na kolonu.

20 7.1.10 Protokol XTT

Pro měření cytotoxických/cytostatických účinků peptidů byly prováděny testy XTT (Weislow, O. S. a další, 1989, J. Natl. Cancer Inst. 81: 577 - 586) v přítomnosti různých koncentrací peptidu s cílem účinně získat index selektivity (SI). Hodnota TC_{50} byla při tomto testu
25 zjišťována inkubací buněk v přítomnosti a nepřítomnosti sériově ředěného peptidu s následným přidáním XTT. V přežívajících/metabolizujících buňkách se XTT redukuje na rozpustné hnědé barvivo, XTT-formazan. Absorbance se odečítá a získané údaje se porovnávají mezi vzorky s přítomností a bez
30 přítomnosti peptidu pro určení TC_{50} použitím Karberovy metody (viz

např. Lennette, E. H. a další, ed., 1969, „Diagnostic Procedures for Viral and Rickettsial Infections“, American Public Health Association, Inc., čtvrté vyd., str. 47 - 52). Buňky Molt 4, CEM (80 000 buněk/jamku) a kombinace těchto dvou typů buněk (70 000, 5 popřípadě 10 000) byly vysety a inkubovány se sériově řaděným peptidem 24 hod v celkovém objemu 100 μ l. Po inkubaci bylo do každé jamky přidáno 25 μ l pracovního zásobního roztoku XTT (1 mg/ml XTT, 250 μ M PMS v úplném médiu obsahujícím 5% DMSO) a destičky byly inkubovány při 37 °C. Bylo odečítáno vyvinuté zbarvení 10 a výsledky byly použity pro vyjádření hodnot poskytnutých jamkami obsahujícími peptid jako procento hodnot z jamek s neošetřenou kontrolou.

7.2 Výsledky

15 7.2.1 Antivirová účinnost - testy fúze

T1249 byl přímo porovnáván s T20 v testech mezibuněčné fúze zprostředkované virem, prováděných na chronicky infikovaných buňkách CEM smíšených s neinfikovanými buňkami Molt-4, jak je ukázáno v tabulce 3 dále. Inhibice fúze T1249 proti laboratorním 20 izolátům, jako je IIIb, MN a RF, je porovnatelná s T20, a vykazuje přibližně 2,5 až 5 násobné zlepšení ve srovnání s T20. T1249 byl rovněž aktivnější (zlepšení 3 až 28 krát) než T20 proti několika klinickým izolátům indukujícím syncytia, včetně AZT rezistentního izolátu (G691-2), a izolátu léčeného před AZT (G762-3), a 9320 25 (izolátu použitého ve studiích HuPBMC-SCID). Nejzajímavější je, že T1249 byl více než 800 krát účinnější proti HIV-2 NIHZ než T20.

Tabulka 3

Izolát viru	T20 (ng/ml)	n	T1249 (ng/ml)	n	Násobek rozdílu
HIV-1 IIIb	2,5	9	1,0	9	2,5
HIV-1 G691-2 (AZT-R)	406,0	1	16,0	1	25
HIV-1 G762-3(Pre-AZT)	340,1	1	12,2	1	28
HIV-1 MN	20,0	7	3,1	7	6
HIV-1 RF	6,1	7	2,1	7	3
HIV-1 9320	118,4	1	34,5	1	3
HIV-2 NIHZ	3610,0	>10	4,3	2	840

7.2.2 Antivirová účinnost - testy infekčnosti Magi-CCR-5

Test infekčnosti Magi-CCR-5 umožňuje přímá porovnání izolátů viru indukujících a neindukujících syncytia stejně jako porovnání mezi laboratorními a klinickými izoláty. Test je také přímým měřítkem virové infekce (exprese TAT po infekci, transaktivace produkce beta-galaktosidázy působením LTR) v protikladu s běžně používanými nepřímými měřítky pro infekčnost, jako je antigen p24 nebo produkce reverzní transkriptázy. Testy infekčnosti Magi-CCR-5 (viz tabulka 4 níže) ukazují, že T1249 je za všech okolností účinnější než T20 proti všem testovaným izolátům, jak z hlediska EC_{50} , tak i výpočtů inhibice $V_n/V_o = 0,1$. T1249 vykazuje podstatné zlepšení účinnosti proti klinickému izolátu HIV-1 301714 (>25 násobné), což je jeden z nejméně citlivých izolátů na T20. Navíc je T1249 alespoň 100 x účinnější než T20 proti izolátu SIV B670. Tyto údaje spolu s fúzními daty ukazují, že T1249 je silný peptidový inhibitor HIV-1, HIV-2 a SIV.

Tabulka 4

Izolát viru	T20		T1249		Násobek rozdílu EC-50	Násobek rozdílu Vn/Vo=0,1
	EC-50	Vn/Vo=0,1	EC-50	Vn/Vo=0,1		
HIB-1 IIIb	42	80	8	10	5	8
HIV-1 9320	11	50	1	6	11	8
HIV-1 301714 (subtyp B, NSI)	1065	4000	43	105	25	38
HIV-1 G691-2 (AZT-R)	13	200	0,3	20	43	10
HIV-1 pNL4-3	166	210	1	13	166	16
SIV-B670	2313	>10000	21	100	110	>100

7.2.3 Antivirová účinnost - test infekčnosti HuPBMC

- T1249 byl přímo porovnáván s T20 v testech infekčnosti HuPBMC (tabulka 5, níže), který představuje uznávanou náhražku systému *in vitro* pro předpovídání koncentrací léčiva v plasmě nutných pro inhibici viru *in vivo*. Tato porovnání odhalila, že T1249 má silnější účinky proti všem dosud testovaným izolátům HIV-1, kde všechny hodnoty $Vn/Vo = 0,1$ (dávka nezbytná pro snížení titru viru o jeden řád) jsou sníženy na submikrogramové koncentrace. Mnoho z nejméně citlivých klinických izolátů na T20 vykazovalo desetinásobnou nebo vyšší citlivost na T1249. Je zajímavé, že HIV-1 9320, izolát používaný

v myším modelu HuPBMC SCID infekce, má na T20 46 krát nižší citlivost než na T1249, což ukazuje velmi dobrou korelaci s výsledky *in vivo*.

5 Tabulka 5

T20		T1249	
Izolát viru (HIV-1)	Vn/Vo=0,1 (ng/ml)	Vn/Vo=0,1 (ng/ml)	Násobek rozdílu
IIIB	250	80	3
9320	6000	130	46
301714 (subtyp B, NSI)	8000	700	11
302056 (subtyp B, NSI)	800	90	9
301593 (subtyp B, SI)	3500	200	18
302077 (subtyp A)	3300	230	14
302143 (SI)	1600	220	7
G691-2 (AZT-R)	1300	400	3

7.2.4 Antivirová účinnost, laboratorní izoláty rezistentní na T20

10 T1249 byl přímo porovnáván s T20 v testech mezibuněčné fúze zprostředkované virem prováděných na chronicky infikovaných buňkách CEM smísených s neinfikovanými buňkami Molt-4 (tabulka 6, níže). T1249 byl téměř 200 krát silnější než T20 proti izolátům rezistentním na T20.

Tabulka 6

Izolát viru	T20 (ng/ml)	n	T1249 (ng/ml)	n	Násobek rozdílu
HIB-1 pNL4-3 SM (T20 rezistentní)	405,3	3	2,1	3	193

V testech Magi-CCR-5 (viz tabulka 7 níže) je T1249 až 50 000 krát účinnější než T20 proti izolátům rezistentním na T20, jako je pNL4-3 SM a pNL4-3 STM (Rimsky, L. a Matthews, T., 1998, J. Virol. 72: 986 - 993).

Tabulka 7

Izolát viru (HIV-1)	T20		T1249		Násobek rozdílu EC-50	Násobek rozdílu Vn/Vo=0,1
	EC-50	Vn/Vo = 0,1	EC-50	Vn/Vo = 0,1		
pNL4-3	166	210	1	13	166	16
pNL4-3 SM (T20-R)	90	900	4	11	23	82
pNL4-3 SM (T20-R) Duke	410	2600	4	11	103	236
pNL4-3 STM (T20/T649-R)	>50000	>50000	1	13	>50000	>3846

T1249 byl přímo porovnáván s T20 v testech infekčnosti HuPBMC (viz tabulka 8, níže) vyhodnocujícím rozdíly v účinnosti proti rezistentnímu izolátu. T1249 je více než 250 krát účinnější než T20 proti rezistentnímu izolátu pNL4-3 SM.

Tabulka 8

	T20	T1249	
Izolát viru (HIV-1)	Vn/Vo=0,1 (ng/ml)	Vn/Vo=0,1 (ng/ml)	Násobek rozdílu
pNL4-3	3500	30	117
pNL4-3 SM (T20-R)	>10000	40	>250

7.2.5 Antivirová účinnost - model SCID-HuPBMC in vivo

- 5 Antivirová účinnost *in vivo* T1249 byla přímo porovnávána s aktivitou T20 v modelu na myších HuPBMC-SCID infekce HIV-1 9320 (obr. 3). Po dvou týdnech po rekonstituci buňkami HuPBMC byly myši infikovány i.p. v den 0 10^3 TCID₅₀ HIV-1 9320 pasážovaného v buňkách PBMC (izolát A018 citlivý na AZT). Peptidy byly podávány
- 10 i.p., dvakrát denně, na celkové denní dávky 67 mg/kg (T20), 20 mg/kg (T1249), 6,7 mg/kg (T1249), 2,0 mg/kg (T1249) a 0,67 mg/kg (T1249), osm dnů, počínaje dnem -1. Rozsah infekce v krevních buňkách, splenocytech, lymfatických uzlinách a peritoneálních buňkách byl zjišťován kvantitativní společnou kultivací s lidskými blasty PBMC
- 15 týdně po tři za sebou následující týdny byl sledován po odebrání vzorků krve a tkání (den 7, přibližně 12 až 18 hod po podání poslední dávky léčiva). Supernatanty pro společnou kultivaci byly testovány na produkci antigenu p24 HIV-1 jako měřítko infekce virem. Infekční virus nebyl v krvi nebo lymfatických tkáních zvířat ošetřených T20
- 20 detekovatelný, i když byl detekovatelný v peritoneálních výplších a preparátu sleziny. Všechny orgány byly negativní na infekční virus při dávce 6,7 mg/kg T1249, což ukazuje alespoň desetinásobné zlepšení proti ošetření T20. V dávce 2,0 mg/kg T1249 byly jak lymfa, tak i slezina zcela prostě detekovatelného infekčního viru, přičemž

v peritoneálním výplachu byl snížen titr viru s faktorem $2 \log_{10}$ a v krvi s faktorem $1 \log_{10}$, ve srovnání s infikovanými kontrolami. Při nejnižší dávce T1249, 0,67 mg/kg, byly peritoneální výplachy a krev ekvivalentní infikované kontrole; jak v lymfě, tak i slezinných tkáních
5 byl však pozorován pokles titru infekčního viru s faktorem alespoň $1 \log_{10}$. Celkově tyto výsledky ukazují, že T1249 je za těchto podmínek přibližně 30 a 100 krát účinnější proti HIV-1 9320 *in vivo*.

7.2.6 Farmakokinetické studie - krysa

10 Pro další definování farmakokinetického profilu T1249 byly použity krysy se zavedenými kanylami. Samci krys CD o hmotnosti 250 až 300 g dostávali i.v. jugulárním katétrem T1249 a T20 (obr. 4A-5). Výsledné vzorky plasmy byly testovány metodou fluorescenční HPLC pro odhad množství peptidu v extrahované plasmě. Poločas beta-fáze
15 a celková AUC T1249 byly téměř třikrát vyšší než u T20 (obr. 5).

7.2.7 Cytotoxicita

Nebyl pozorován žádný zjevný důkaz cytotoxicity T1249 *in vitro*, jak je ukázáno na obr. 6.

20 Navíc není T1249 akutně toxický (smrt během 24 hod) při dávce 167 mg/kg (nejvyšší testovaná dávka) podané i.v. jugulární kanylou (0,3 ml v průběhu 2 až 3 min).

7.2.8 Přímá vazba na konstrukt gp41 M41Δ178

25 T1249 byla radioaktivně označena ^{125}I a čištěna HPLC na maximální specifickou aktivitu. T20 byl jodován stejným způsobem. Saturační vazba M41Δ178 (zkrácený fúzní protein ektodomény gp41 postrádající aminokyselinovou sekvenci T20) imobilizovaného na mikrotitračních destičkách při koncentraci 0,5 mg/μl je ukázána na

obr. 7. Nespecifická vazba byla definována jako vazba radioligandu v přítomnosti 1 μM neznačeného peptidu. Specifická vazba byla rozdíl mezi celkovou a nespecifickou vazbou. Výsledky ukazují, že ^{125}I -T1249 a ^{125}I -T20 mají podobné vazebné afinity 1 až 2 nM. Lineární inverzní Scatchardova vynesení ukazují, že každý ligand se váže na homogenní třídu vazebných míst.

Kinetika vazby ^{125}I -T1249 a ^{125}I -T20 byla zjišťována na scintilačních mikrotitračních destičkách potažených 0,5 $\mu\text{g/ml}$ M41 Δ 178. Časový průběh asociace a disociace je ukázán na obr. 8. Disociace navázaného radioligandu byla měřena po přidání neznačeného peptidu na konečnou koncentraci 10 μM v jedné desetíně celkového objemu testu. Počáteční hodnoty náběhu a poklesu pro ^{125}I -T1249 byly podstatně nižší než hodnoty pro ^{125}I -T20. Obrazy disociace pro oba radioligandy byly nezměněné, jestliže byla disociace zahájena jiným neznačeným peptidem (tj. ^{125}I -T1249 s T20).

Pro další demonstraci, že oba ligandy soutěží o stejné cílové místo, byly T1249 a T20 titrovány v přítomnosti jediné koncentrace buď ^{125}I -T1249 nebo ^{125}I -T20. Ligand byl přidán těsně po začátku inkubace neznačeného peptidu. Kompetitivní křivky ukázané na obr. 9 naznačují, že ačkoli oba ligandy mají podobné afinity, je nutná vyšší koncentrace buď neznačeného T20 nebo T1249 pro plné soutěžení o vazbu ^{125}I -T1249.

7.2.9 Přímá vazba na oblast HR1 GP41

Pro měření sekundární struktury T1249 v roztoku (fyziologický roztok s fosfátovým pufrům, pH 7) samostatně a v kombinaci s peptidem o délce 45 zbytků (T1346) z HR1 (sedminásobné opakování 1) vazebné oblasti gp41 byla použita spektroskopie cirkulárního dichroismu (CD). Obr. 14A ilustruje spektrum CD samotného T1249 v roztoku (10 μM , 1 $^{\circ}\text{C}$). Spektrum je typické pro

peptidy, které přijmou alfa-šroubovicovou strukturu. Rozbor tohoto spektra zvláště s použitím jediné hodnoty rozkladu se základem nastaveným na spektra proteinu 33 předpovídá obsah šroubovice T1249 (samostatný v roztoku) na 50 %. Obr. 14B ilustruje
 5 reprezentativní spektrum CD T1249 ve směsi s T1346. Plné čtverečky (■) znázorňují teoretické spektrum CD předpovězené pro „model bez interakce“, kde se předpokládá, že peptidy v roztoku neinteragují. Skutečné experimentální spektrum (●) se podstatně liší od tohoto teoretického spektra „bez interakce“, což ukazuje, že tyto dva peptidy
 10 samozřejmě interagují při vzniku měřitelné strukturní změny, která se pozoruje na spektru CD.

7.2.10 Ochrana vazebné oblasti T1249 uvnitř gp41 před proteázou

Vnímavost chimérního proteinu M41Δ178, popisovaného v části
 15 7.2.8 výše ke štěpení proteinázou K byla zjišťována a analyzována elektroforézou na polyakrylamidovém gelu. Výsledky jsou znázorněny na obr. 15.

Jestliže se buď M41Δ178 (neošetřený; obr. 15, dráha 2) nebo T1249 (neošetřený; obr. 15, dráha 4) inkubují jednotlivě s proteinázou
 20 K (obr. 15, dráhy 3 a 5), štěpí se oba proteiny. Jestliže se však T1249 inkubuje s M41Δ178 před přidáním proteinázy K (obr. 15, dráha 7), vznikne chráněný fragment HR-1 s výslednou molekulovou hmotností přibližně 6500 Daltonů. Sekvenování chráněného fragmentu ukazuje, že odpovídá oblasti primární sekvence umístěné uvnitř ektodomény
 25 gp41. Chráněný fragment zahrnuje rozpustný peptid HR1 (T1346) používaný ve studiích CD popisovaných v části 7.2.9 výše, a dále obsahuje dalších sedm aminokyselinových zbytků umístěných na aminovém konci. Tato ochrana může být připisována vazbě T1249 na specifickou sekvenci gp41, která je obsažena v konstruktu M41Δ178.

8. Příklad

Hybridní polypeptidy viru respiračního syncytia

Následující příklad popisuje hybridní polypeptidy viru respiračního syncytia (RSV) se zlepšenými farmakokinetickými vlastnostmi. Dále se uvádějí výsledky, které dokládají, že hybridní polypeptidy RSV jsou silné inhibitory infekce RSV.

8.1 Materiály a metody

8.1.1 Syntéza peptidů a čištění

Polypeptidy RSV byly syntetizovány použitím standardních chemických reakcí Fast Moc. Obecně, pokud není uvedeno jinak, obsahovaly peptidy amidované karboxylové konce a acetylované aminové konce. Čištění bylo prováděno HPLC s reverzními fázemi.

8.1.2 Test snížení počtu plaků viru respiračního syncytia

Všechna nezbytná ředění peptidů byla prováděna v čisté, sterilní 96-jamkové destičce TC. Bylo připraveno celkem 11 ředění pro každý peptid a jedna kontrolní jamka neobsahující peptid. Rozmezí konečných koncentrací peptidu začínalo na 50 µg/ml nebo 100 µg/ml celkem s 11 dvojnásobnými ředěními. RSV byl připraven s koncentrací 100 PFU/jamku ve 100 µl 3% EMEM, zjištěnou pomocí známého titru RSV. Virus se potom přidá do všech jamek.

Z jedné 96-jamkové destičky se subkonfluentními buňkami Hep2 byla odebrána média. Materiál z ředicí destičky byl převeden na destičky s buňkami počínaje řadou 1, a potom byly převedeny řady 12, 11, atd., dokud nebyly převedeny všechny řady. Destičky byly vloženy zpátky do inkubátoru na 48 hod.

Buňky byly testovány pro zajištění, že v kontrolních jamkách jsou přítomna syncytia. Média byla odstraněna a do každé jamky bylo

přidáno přibližně 50 µl 0,25% krystalové violeti v methanolu. Jamky byly okamžitě opláchnuty ve vodě pro odstranění nadbytku barviva a ponechány usušit. Pomocí preparačního mikroskopu byla počítána syncytia v každé jamce.

5

8.2 Výsledky

Farmakokinetické studie s hybridními peptidy RSV T1301 (Ac-WQEWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELWA WF-NH₂) a T1302 (Ac-WQAWDEYDASISQVNEKINQALAYIREADELW AWF-NH₂) obsahujícími zesilující peptidové sekvence ukázaly značně zlepšený poločas ve srovnání s polypeptidovým jádrem T786 (Ac-VYPSDEYDASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV-NH₂), jak je také ukázáno na obr. 10A - 10B. Hybridní polypeptidy T1301, T1302 a T1303 (Ac-WQAWDEYDASISDVNEKINQALAYIREADELWEWF-NH₂) rovněž ukázaly značně zvýšený poločas vzhledem k polypeptidovému jádru T1476 (Ac-DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL-NH₂).

Hybridní polypeptidy RSV T1301, T1302 a T1303 stejně jako polypeptid T786 a T1293, byly testovány na svou schopnost inhibovat tvorbu plaků RSV na buňkách HEp2. Jak je ukázáno na obr. 11A a 11B, testované hybridní polypeptidy RSV stejně jako polypeptidová jádra T786 byly schopny inhibovat infekci RSV. Je překvapivé, že se hybridní polypeptid T1293 rovněž ukázal jako silná anti-RSV sloučenina (obr. 13).

9. Příklad

Hybridní polypeptidy luteinizačního hormonu

Zde popisovaný příklad ukazuje hybridní proteiny luteinizačního hormonu (LH) se zlepšenými farmakokinetickými vlastnostmi. Následující hybridní peptidy LH byly syntetizovány a čištěny použitím výše popsaných metod: polypeptidové jádro T1323 (Ac-

30

-QHWSYGLRPG-NH₂) a hybridní polypeptid T1324 (Ac-WQEWEQKIQHWSYGLRPGWASLWEWF-NH₂), který obsahuje aminokyselinovou sekvenci polypeptidového jádra T1323 svázanou se zesilujícími peptidy na aminovém a karboxylovém konci. Jak je ukázáno na obr. 12A a 12B, hybridní peptid T1324 ukázal podstatně zvýšený poločas při porovnání s polypeptidovým jádrem T1323 postrádajícím zesilující peptidové sekvence.

10. Příklad

10 Farmakologické vlastnosti hybridního polypeptidu T1249

T1249 znázorněný na obr. 13 je hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidové sekvence navázané na polypeptidové jádro odvozené ze směsi virových sekvencí. Jak je ukázáno v příkladu uvedeném v části 7 výše, hybridní polypeptid T1249 má zlepšené farmakokinetické vlastnosti a silnou aktivitu *in vitro* i *in vivo* proti HIV-1. V příkladu uvedeném níže se dále popisují farmakologické vlastnosti T1249 jak u modelů na hlodavcích, tak i na modelech primátů.

10.1 Materiály a metody

10.1.1 Jediná dávka podaná savcům

T1249 byl podáván albinotickým krysám Sprague-Dawley v jediné dávce kontinuální subkutánní infuzí (s.c.i.), subkutánní (s.c.) injekcí nebo intravenózní (i.v.) injekcí. Každá léčená skupina se skládala z 9 krys každého pohlaví ve skupině. Skupiny dostávaly sterilní preparáty samotné léčivé látky T1249 v dávkách 0,5, 2,0, nebo 6,5 mg/kg c.s.i. Jedna skupina dostala 50 mM karbonát-bikarbonát pH 8,5 jako kontrolu. Peptidy byly podávány 12 hod katétreem polyvinylchlorid/polyethylen, chirurgicky implantovaným podkožně v týlu krku. Dvě skupiny dostaly jedinou dávku T1249 v množství 1,2

nebo 1,5 mg/kg subkutánní injekcí do intraskapulární oblasti. Dvě skupiny dostaly jedinou dávku T1249 v množství 1,5 nebo 5 mg/kg intravenózní injekcí. Skutečné množství T1249 v miligramech bylo vypočteno použitím obsahu peptidu, který byl určen pro každou
5 podanou šarži.

Při analýzách byla prováděna pozorování v kleci (dvakrát denně na úmrtnost a nemocnost), byly zjišťovány klinické laboratorní parametry, tělesná hmotnost, a byla provedena pitva. Vzorky krve byly získány občasným vzorkováním v průběhu 12 hod od tří krys od
10 každého pohlaví ve skupině v každém z následujících časů: 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 19 a 12 hod po podání dávky. Analýza vzorku byla prováděna testem PcAb ECLIA (Blackburn, G. a další, 1991, Clin. Chem. 37: 1534 - 1539; Deaver, D., 1995, Nature 377: 758).

Pro farmakokinetické analýzy T1249 v plasmě a lymfě krys byl
15 T1249 připraven ve formě sterilního roztoku v bikarbonátovém pufru a podáván ve formě jednotlivé dávky, jednorázové intravenózní injekce, do laterální ocasní žíly, v dávce 20 mg/kg. Zvířatům byla odebírána krev pomocí zavedeného jugulárního katétru. Vzorky byly odebírány ihned po podání dávky, a v časech 5, 15 a 30 min, a 1, 2, 4
20 a 6 hod po podání léčiva. Pro analýzu lymfatických kapalin byly odebírány vzorky bezprostředně před podáním dávky a každých 20 min prvních 6 hod po podání dávky. Lymfatická tekutina byla odebírána z katétru umístěného přímo do hrudního lymfatického kanálu, jak bylo popsáno dříve (Kirkpatrick a Silver, 1970, *The Journal of Surgical Research* 10: 147 - 158). Koncentrace T1249 v plasmě a
25 lymfatické tekutině byly zjišťovány použitím standardního kompetitivního testu ELISA na T1249 (Hamilton, G. 1991, str. 139, v „Immunochemistry of Solid-Phase Immunoassay“, Butler, J., ed., CRC Press, Boston).

10.1.2 Jednorázové podávání primátům

Sterilní preparáty čisté léčivé látky T1249 byly podávány opicím cynomologus v jednorázových dávkách podávaných subkutánní (s.c.), intramuskulární (i.m.) nebo intravenózní (i.v.) injekcí. V sekvenčním zkříženém uspořádání dostala jedna skupina zvířat složená ze dvou
5 zvířat od každého pohlaví jednu jednorázovou dávku T1249 i.v. (0,8 mg/kg), i.m. (0,8 mg/kg) nebo s.c. (0,4, 0,8 a 1,6 mg/kg). Každý den s podáním dávky byl oddělen od jiných alespoň třemi dny vyplavovacího období. Lyofilizovaný T1249 byl rekonstituován ve
10 sterilním fyziologickém roztoku s fosfátovým pufrem pH 7,4 bezprostředně před podáním dávky. Skutečné množství testované látky v miligramech bylo vypočteno pomocí obsahu peptidu zjištěného pro podávanou šarži.

Při analýze byla zvířata pozorována v klecích a byla prováděna
15 fyzikální vyšetření a zjišťována tělesná hmotnost. Pro i.v. fázi studie byly do heparinizovaných zkumavek odebírány vzorky krve v následujících časech. Ihned po podání dávky, a v časech 0,25, 0,5, 1,5, 3, 6, 12 a 24 hod po podání dávky. Pro fáze i.m. a s.c. studie byly do heparinizovaných zkumavek od každého zvířete odebírány vzorky
20 krve v následujících časech: 0,5, 1, 2, 3, 6, 12 a 24 hodin po podání dávky. Vzorky plasmy byly připravovány během jedné hodiny po odběru a rychle zamraženy v kapalném dusíku. Analýzy vzorků byly prováděny testem PcAb ECLIA (Blackburn, G. a další, 1991, Clin. Chem. 37: 1534 - 1539; Deaver, D., 1995, Nature 377: 758).

25

10.1.3 Přemostňující farmakokinetická studie

Šest samců opic cynomolgus bylo náhodně zařazeno do tří skupin po dvou zvířatech ve skupině. Všechny dávky T1249 byly podány jednorázovou subkutánní injekcí. Studie byla rozdělena do
30 dvou částí. V části 1 dostala zvířata ve skupinách 1, 2 a 3 sterilní

preparát samostatné léčivé látky (tj. látka T1249 rozpuštěná v karbonátovém-bikarbonátovém pufru, pH 8,5) dvakrát denně po čtyři za sebou následující dny (dny studie 1 - 4) v dávkách 0,2, 0,6 a 2,0 mg/kg/dávku. Část 1 a část 2 byly odděleny desetidenním
5 vymývacím obdobím. V části 2 dostávají zvířata ve skupinách 1, 2 a 3 sterilní preparát léčivé látky T1249 (tj. ve vodném roztoku pH 6,5, plus mannitol) dvakrát denně po čtyři za sebou následující dny (dny studie 15 - 18) s dávkami 0,2, 0,6 a 2,0 mg/kg/dávku.

Vzorky krve pro farmakokinetické analýzy byly odebírány ve dnech studie 1 a 15 pro zjišťování farmakokinetických vlastností pro
10 jednu dávku a ve dnech studie 4 a 18 pro zjišťování ustálených farmakokinetických parametrů v plasmě. Vzorky byly odebírány v následujících časech: bezprostředně před odáním dávky a 0,5, 1,5, 3,0, 4,0, 6,0, 8,0 a 12,0 hod po podání dávky. V částech 1 a 2 studie
15 byla zvířata monitorována na klinické příznaky a změny tělesné hmotnosti.

10.2 Výsledky

10.2.1 Farmakokinetické vlastnosti T1249 podávaného krysám

Pro počáteční zjištění farmakokinetických vlastností v plasmě a distribuce T1249 byly použity krysí modely. Pro zvířata ve všech dávkových skupinách nebyly pozorovány žádné změny tělesné hmotnosti, fyzického stavu, hematologických a klinických chemických parametrů nebo makroskopických patologických pozorování
20 souvisejících s podáváním T1249.
25

Krasy, které dostaly T1249 c.s.i., dosáhly rovnovážných koncentrací peptidu v plasmě přibližně 4 hod po podání. Jak rovnovážné koncentrace v plasmě (C_{pss}), tak i vypočtená plocha pod křivkou závislosti koncentrace v plasmě na čase (AUC) byly přímo
30 úměrné podané dávce, což ukazuje, že T1249 vykazuje lineární

farmakokinetické vlastnosti v rozmezí testovaných dávek 0,5 až 6,5 mg/kg. Jak vypočtené farmakokinetické vlastnosti, tak i křivky závislosti plasmatické koncentrace na čase pro podávání c.s.i., jsou uvedeny v tabulce 9, popřípadě v obr. 16A.

5

Tabulka 9

Skupiny podle dávek			
Parametr	0,5 mg/kg	2,0 mg/kg	6,5 mg/kg
C_{pss} (µg/ml)	0,80	2,80	10,9
$AUC_{(0-12h)}$ (µg.h/ml)	7,99	25,9	120

Podání T1249 jednorázovou i.v. injekcí vedlo k lineární závislosti farmakokinetických parametrů na dávce v rozmezí testovaných dávek.

- 10 Naopak expozice T1249 podaného s.c. injekcí nebyla v rozmezí studovaných dávek závislá na dávce. Vypočtené farmakokinetické parametry a křivky závislosti plasmatické koncentrace na čase jak pro s.c., tak i pro i.v. podání T1249, jsou ukázány v tabulce 10, popřípadě obr. 16B.

15

Tabulka 10

Dávkové skupiny/způsob podávání				
Parametr	(s.c.)		(i.v.)	
	1,2 mg/kg	15 mg/kg	1,5 mg/kg	5,0 mg/kg
$t_{1/2}$, koncový (hod)	2,02	2,00	2,46	1,86
t_{max} (hod)	1,09	1,88	-	-
C_{max} (µg/ml)	6,37	21,5	15,7	46,3
$AUC_{(0-12h)}$ (µg.h/ml)	27,0	107	45,6	118
$AUC_{(0-\infty)}$ (µg.h/ml)	27,6	110	47,1	120

Biologická dostupnost T1249 podávaného krysám subkutánně byla zjišťována v porovnání s i.v. podáváním. Výsledky jsou ukázány v tabulce 11 níže. Při nízké dávce (1,2 mg/kg) měla T1249 relativní biologickou dostupnost (F_R) pro subkutánní podání 73 %. Relativní biologická dostupnost byla 30 %, jestliže byla při podání vysoké dávky (15 mg/kg) T1249 koncentrace vyšší než koncentrace, která inhibuje 90 % (IC_{90}) infekčnosti HIV pro plných 12 hod studie při všech vyšetřovaných dávkách.

10

Tabulka 11

Způsob podání	Dávka (mg/kg)	$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g.h/ml}$)	$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g.h/ml}$)	F_R (%)
Nízká dávka				
s.c.	1,2	27,6	34,5 ^(a)	73
i.v.	1,5	47,1	-	-
Vysoká dávka				
s.c.	15	110	36,5 ^(b)	30
i.v.	5	120	-	-

(a) Normalizováno z dávky 1,2 mg/kg na dávku 1,5 mg/kg vynásobením $AUC_{(0-\infty)}$ faktorem 1,25.

(b) Normalizováno z dávky 15 mg/kg na dávku 5 mg/kg vydělením $AUC_{(0-\infty)}$ faktorem 3.

15

Kinetická data pro koncentrace v plasmě i v lymfě T1249 jsou ukázána na obr. 16C a uvedena v následující tabulce 12. T1249 rychle pronikal do lymfatického systému a dosáhl rovnováhy s plasmatickou zásobou léčiva v průběhu přibližně 1 hod po podání. Po vyrovnání koncentrace mezi těmito dvěma částmi byly koncentrace léčiva v plasmě a lymfě porovnatelné mimo tří hodin po podání dávky u čtyř

20

z pěti zvířat. Jedno zvíře mělo trvale nižší koncentrace T1249 v lymfě než jiná zvířata, avšak profil lymfatické eliminace u tohoto zvířete byl nerozlišitelný od jiných členů skupiny. Porovnání eliminační fáze poločasu ($t_{1/2}$) pro plasmu a lymfu ukazuje, že přechod T1249 mezi
 5 těmito dvěma částmi je řízen difuzí. Po třech hodinách se zdá, že existuje druhá, rychlejší eliminační fáze z lymfatického systému. Tento rozdíl by mohl být způsoben mechanismem (například v důsledku redistribuce nebo urychlené degradace peptidu v lymfě) nebo jinými faktory. Koncentrace T1249 v lymfatické tekutině 6 hod po injekci je
 10 vyšší než IC_{90} pro virovou infekčnost pro běžné laboratorní kmeny a pro primární klinické izoláty HIV-1.

Byla také zjišťována míra pronikání T1249 do cerebrospinální tekutiny (CSF). Koncentrace T1249 byly nižší než je detekční limit (LOD; 2,0 ng T1249/ml CSF) ve všech měřitelných časech, což
 15 ukazuje, že po jednorázovém podání neproniká T1249 do centrálního nervového systému.

Tabulka 12

Parametr	T1249	
	Plasma	Lymfa
$t_{1/2}$, vylučování (hod)	$2,6 \pm 0,41$	$1,3 \pm 0,27$
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	291	$133^{(a)}/155^{(b)}$
$AUC_{(0-6h)}$ ($\mu\text{g.h/ml}$)	506	$348^{(a)}/411^{(b)}$
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g.h/ml}$)	598	$390^{(a)}/449^{(b)}$
Cl (ml/h)	7,8	11,5

(a) Vypočtené průměry včetně jednoho zvířete (krysa #1), které
 20 mělo podstatně nižší lymfatické koncentrace, ale podobný kinetický profil ve srovnání s jinými zvířaty ve skupině.

(b) Vypočtené průměry s vyloučením krysy #1.

10.2.2 Farmakokinetické vlastnosti T1249 podávaného primátům

Pro vyhodnocení vztahu mezi dávkou a různými farmakokinetickými parametry spojenými s parenterálním podáváním T1249 byly použity modely primátů. Koncentrace v plasmě vyšší než 6,0 µg/ml T1249 byly dosaženy všemi způsoby podávání a kvantifikovatelné hladiny (tj. hladiny vyšší než 0,5 µg/ml) byly detekovány 24 hod po podání s.c. a i.v. Poločas vylučování $t_{1/2}$ byl pro všechny způsoby podávání srovnatelný (5,4 hod, 4,8 hod a 5,6 hod pro podání i.v., s.c. a i.m.). Koncentrace T1249 v plasmě, které byly vyšší než hodnoty IC_{90} pro laboratorní kmeny a klinické izoláty HIV-1 byly pozorovány ve všech bodech měření v průběhu 24 hod období vzorkování.

Porovnání údajů získaných pro parenterální podávání 0,8 mg/kg T1249 všemi způsoby podávání (s.c., i.v. a i.m.) je ukázáno v obr. 17A. Obr. 15B znázorňuje srovnání údajů získaných při s.c. injekci při třech různých dávkách T1249 (0,4 mg/kg, 0,8 mg/kg a 1,6 mg/kg). Vložený obrázek v obr. 17B obsahuje vynesení vypočtené AUC proti podané dávce.

T1249 má u opic cynomolgus lineární farmakokinetické vlastnosti po s.c. podání v rozmezí podávaných dávek, což ukazuje, že se v tomto rozmezí nedosáhlo saturace vylučovacího mechanismu nebo mechanismů. Souhrn farmakokinetických údajů po parenterálním podání T1249 opicím cynomolgus je uveden v tabulce 13, níže. Porovnání hodnot AUC v plasmě ukazuje, že ve srovnání s intravenózním podáním je při intramuskulární injekci biologická dostupnost T1249 přibližně 64 % a při subkutánní injekci 92 %.

Tabulka 13

Parametr	Způsob podání (dávka, mg/kg)				
	s.c. (0,4)	s.c. (0,8)	s.c. (1,6)	i.m. (0,8)	i.v. (0,8)
$t_{1/2}$, konečný (h)	$6,23 \pm 0,52$	$4,83 \pm 0,48$	$5,55 \pm 0,92$	$5,57 \pm 0,24$	$5,35 \pm 0,95$
t_{max} (h)	$3,97 \pm 1,18$	$4,58 \pm 1,45$	$4,72 \pm 1,81$	$2,32 \pm 0,43$	-
C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	$3,17 \pm 0,09$	$6,85 \pm 1,01$	$13,3 \pm 2,55$	$6,37 \pm 1,69$	$26,7 \pm 0,25$
$AUC_{(0-24)}$ ($\mu\text{g.h/ml}$)	$37,5 \pm 6,6$	$8,12 \pm 11,4$	$168 \pm 34,0$	$56,4 \pm 12,3$	$87,4 \pm 25,0$
$AUC_{(0-\infty)}$ ($\mu\text{g.h/ml}$)	$40,9 \pm 8,2$	$85,3 \pm 13,6$	$181 \pm 44,0$	$59,5 \pm 13,1$	$92,5 \pm 25,0$
F_R (%)	-	92,3	-	64,4	-

10.2.3 Přemostňující farmakokinetická studie

Přemostňující farmakokinetické studie byly prováděny s cílem srovnat farmakokinetické profily v plasmě čisté léčivé substance T1249 použité při neklinických pokusech popisovaných výše s léčivým produktem T1249 ve formulovaném prostředku, který by se podával skutečnému subjektu nebo pacientovi, například pro léčení infekce HIV. Tato studie byla navržena jako jednosměrné, zkřížené porovnání v paralelních skupinách tří dávkových hladin T1249 ve formě čisté léčivé látky a tří dávkových hladin formulovaného léčivého produktu. Farmakokinetické vlastnosti v plasmě byly vyhodnocovány po podání jediné dávky a po dosažení ustáleného stavu.

Podávání T1249 subkutánní injekcí poskytlo měřitelné hladiny peptidu u všech skupin, kterým byla dávka podána. Křivky závislosti koncentrace v plasmě na čase byly u všech skupin s podanou dávkou přibližně paralelní po počáteční dávce (dny 1 a 15) a v ustáleném stavu (dny 4 a 18) jak pro čistou léčivou látku T1249, tak i pro formulovaný léčivý produkt T1249. Navíc se pro obě formulace léčiva hodnoty $AUC_{(0-12h)}$ měnily přímo úměrně s dávkou. Vypočtené hodnoty $AUC_{(0-12h)}$ pro léčivý produkt se pohybovaly v rozmezí od 43 % až 80

% hodnot $AUC_{(0-12h)}$ vypočtených pro léčivou látku po podání jedné dávky, a od 36 % do 71 % v ustáleném stavu.

Čistá léčivá látka T1249 a produkt léčiva ukázaly podobné farmakokinetické profily u opic cynomolgus po jednorázovém subkutánním podávání při testovaných dávkách a oběmu dávek. Přímé porovnání tvarů křivek závislosti koncentrace v plasmě na čase v provedené studii a tvarů křivek z předcházející studie u opic cynomolgus ukazuje, že při podání T1249 subkutánní injekcí dochází k depotnímu efektu. To je naznačeno zvýšením času, ve kterém je dosažena maximální koncentrace v plasmě (t_{max}) a $t_{1/2}$.

Tyto výsledky ukazují, že formulace léčivé látky použitá ve farmakologickém programu poskytuje srovnatelné hodnoty AUC a dalších kinetických parametrů s hodnotami pozorovanými po podání formulovaného léčivého produktu. Tato pozorování ukazují, že klinické podávání T1249 povede k celkové expozici pacienta látce T1249.

11. Příklad

Izolace nových polypeptidových jader s antivirovou aktivitou pro izolát HIV-1 rezistentní na T649

Jak se zde popisuje na konkrétním neomezujícím příkladu, je vytvořeno modifikované peptidové jádro, které má antivirovou aktivitu proti kmenům HIV rezistentním na nemodifikované, „rodičovské“ peptidové jádro.

Peptid T649 ukázaný v tabulce 2 je peptid odvozený z oblasti proteinu gp41 HIV-1, označovaného zde jako HR2. Ve studiích variant HIV-1 rezistentních na T649 odhaluje izolace a sekvenování nukleové kyseliny kódující oblast HR2 rezistentní varianty peptidu gp41 mutaci, která vede k jediné mutaci v této oblasti: změna z asparaginu (N) na lysin (K).

S použitím tohoto výsledku byl syntetizován nový polypeptid, který se zde označuje jako DP397, který obsahuje aminokyselinovou sekvenci T649, do které byla zavedena výše uvedená mutace N na K. Dále jsou ukázány peptidy T649 a DP397 s jediným rozdílem aminokyseliny mezi dvěma peptidy znázorněným tučně.

T649: WMEWDREINNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL

DP397: WMEWDREINKYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELL

Je třeba zdůraznit, že rozdíl mezi T649 a DP397 spadá do potenciálního místa N-glykosylace (podtrženo). Mutace gp41 kmene rezistentního na T649 tedy zrušila toto potenciální místo N-glykosylace.

Polypeptidové jádro DP397 má antivirové účinky proti variantám HIV-1, které jsou rezistentní na peptid T649. Peptid DP397 konkrétně vykazoval podstatně zvýšenou antivirovou účinnost při testu infekčnosti Magi-CCR-5 popisovaném v části 7.1.7 výše proti čtyřem variantám HIV-1. Navíc bylo také při některých experimentech zjištěno, že peptid DP397 má zvýšené antivirové účinky proti těmto kmenům vzhledem k peptidu T1249.

Obr. 18A - D ukazují řadu infikovaných buněk vystavených variantám rezistentním na T649 jako funkci koncentrace peptidu pro T649, DP397 a T1249. Obr. 18A - B konkrétně ukazují údaje z experimentů používajících kmeny HIV-1 rezistentní na T649, označované zde jako RF-649, popřípadě DH012-649. Tyto kmeny jsou odvozeny od izolátů HIV-1_{RF} a HIV-1_{DH012}, které byly pasážovány přes buněčné kultury v přítomnosti T649 za vzniku variant rezistentních na T649.

Obr. 18C - D ukazují údaje z experimentů využívajících zkonstruovaných kmenů HIV-1 rezistentních na T649, které se zde označují jako 3'ETVQQQ, popřípadě SIM-649. Kmen 3'ETVQQQ byl získán z klonu HIV-1_{LAI}, který byl molekulárně mutagenizován tak, aby

obsahoval aminokyselinovou sekvenci ETVQQQ, namísto GIVQQQ v doméně HR1 proteinu gp41. HR1 je oblast proteinu HIV-1 gp41, na kterou se váže doména HR2 a peptid T649. Kmen SIM-649 byl získán z klonu HIV-1_{LAI}, který byl molekulárně mutagenizován tak, aby
5 obsahoval sekvenci aminokyselin SIM namísto GIV, v doméně HR1 proteinu gp41, a potom byl pasážován v buněčných kulturách v přítomnosti T649 za vytvoření varianty rezistentní na T649.

Peptid DP397 má podstatně zvýšené inhibiční účinky na infekci HIV-1 ve srovnání s T649 pro všechny čtyři testované kmeny. Navíc
10 má peptid DP397 zvýšené inhibiční účinky na HIV-1 ve srovnání s T1249 pro kmen RF649 (obr. 18A) a při vyšších koncentracích pro kmen DH012-649 (obr. 18B).

Předkládaný vynález nemá být, co se týče jeho rozsahu, omezen specifickými zde popisovanými provedeními, která jsou považována za
15 jednotlivé ilustrace individuálních aspektů vynálezu; do rámce předkládaného vynálezu spadají i funkčně ekvivalentní metody a složky. Z předcházejícího popisu a doprovodných výkresů budou odborníkům v oboru zřejmé další modifikace vynálezu navíc k těm, které jsou zde ukázány a popisovány. Tyto modifikace mají rovněž
20 spadat do rámce přiložených nároků.

Zastupuje:

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob zlepšení farmakokinetických vlastností polypeptidového
5 jádra, v y z n a č u j í c í s e t í m , ž e s e n a
polypeptidové jádro naváže zesilující peptidová sekvence za
vytvoření hybridního polypeptidu; přičemž zesilující peptidová
sekvence zahrnuje WXXWXXXI, WXXWXXX, WXXWXX,
WXXWX, WXXW, WXXXWXWX, XXXWXWX, XXWXWX,
10 XWXWX, WXWX, WXXXWXW, WXXXWX, WXXXW,
IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW, XWXXW, XWXWXXXW,
XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX, XWXW, WXWXXXW nebo
XWXXXW; kde polypeptidové jádro obsahuje sekvenci
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK (SEQ ID No. 1286); a kde
15 alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu
je konjugován s polyolem tak, že při zavedení do živého
systému má hybridní polypeptid zlepšené farmakokinetické
vlastnosti proti vlastnostem, které má polypeptidové jádro.
- 20 2. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci
navázanou na polypeptidové jádro; kde zesilující peptidová
sekvence zahrnuje aminokoncové sekvence WXXWXXXI,
WXXWXXX, WXXWXX, WXXWX, WXXW, WXXXWXWX,
XXXWXWX, XXWXWX, XWXWX, WXWX, WXXXWXW,
25 WXXXWX, WXXXW, IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW,
XWXXW, XWXWXXXW, XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX,
XWXW, WXWXXXW nebo XWXXXW; kde polypeptidové jádro
obsahuje sekvenci TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK (SEQ ID
No. 1286); a kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek
30 hybridního polypeptidu je konjugovaný s polyolem.

3. Hybridní polypeptid podle nároku 2, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec polypeptidového jádra.

5

4. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na polypeptidové jádro; kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje sekvenci WQEWEQKI (SEQ ID No. 1129) nebo WASLWEWF (SEQ ID No. 1433); kde polypeptidové jádro obsahuje sekvenci TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK (SEQ ID No. 1286); a kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu je konjugován s polyolem.

10

5. Polypeptid obsahující aminokyselinovou sekvenci WQEWEQKI-TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDKWASLWEWF (SEQ ID No. 1310), kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek tohoto polypeptidu je konjugován s polyolem.

15

6. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na polypeptidové jádro; kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje karboxykoncovou sekvenci WXXWXXXI, WXXWXXX, WXXWXX, WXXWX, WXXW, WXXXWXWX, XXXWXWX, XXWXWX, XWXWX, WXWX, WXXXWXW, WXXXWX, WXXXW, IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW, XWXXW, XWXWXXXW, XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX, XWXW, WXXWXXXW nebo XWXXXW; kde polypeptidové jádro obsahuje sekvenci TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK (SEQ ID No. 1286); a kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu je konjugován s polyolem.

20

25

30

7. Hybridní polypeptid podle nároku 6, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci navázanou na aminový konec polypeptidového jádra.
- 5 8. Polypeptid obsahující sekvenci TALLEQAQIQQEKNE-
-YELQKLDK (SEQ ID No. 1286); kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek polypeptidu je konjugovaný s polyolem.
- 10 9. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e obsahuje polypeptid TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDK (SEQ ID No. 1286), kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek tohoto polypeptidu je konjugovaný s polyolem, a farmaceuticky přijatelný nosič.
- 15 10. Farmaceutický prostředek, v y z n a č u j í c í s e t í m ,
ž e obsahuje polypeptid WQEWEQKITALLEQAQIQQE-
-KNEYELQKLDKWASLWEWF (SEQ ID No. 1310), kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek tohoto polypeptidu je konjugovaný s polyolem, a farmaceuticky přijatelný nosič.
- 20 11. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na polypeptidové jádro; kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje WQEWEQKI (SEQ ID No. 1129) nebo WASLWEWF (SEQ ID No. 1433); a kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu je konjugovaný s polyolem.
- 25

12. Hybridní polypeptid podle nároku 11, kde zesilující peptidová sekvence je navázána na aminový konec polypeptidového jádra.
- 5 13. Hybridní polypeptid podle nároku 12, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec polypeptidového jádra.
- 10 14. Hybridní polypeptid podle nároku 11, kde zesilující peptidová sekvence je navázána na karboxylový konec polypeptidového jádra.
- 15 15. Hybridní polypeptid podle nároku 11, kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje WQEWEQKI (SEQ ID No. 1129).
- 16 16. Hybridní polypeptid podle nároku 11, kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje WASLWEWF (SEQ ID No. 1433).
- 20 17. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na polypeptidové jádro; kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje aminokoncové sekvence WXXWXXXI, WXXWXXX, WXXWXX, WXXWX, WXXW, WXXXWXWX, XXXWXWX, XXWXWX, XWXWX, WXWX, WXXXWXW, WXXXWX, WXXXW, IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW, XWXXW, XWXWXXXW, XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX, XWXW, WXWXXXW nebo XWXXXW; kde polypeptidové jádro zahrnuje následující aminokyselinové sekvence
- 25 LEENITALLEEAIQIQKEKNMYELQKLNS;
LEANISQSLEQAQIQKEKNMYELQKLNS;

DFLEENITALLEEAQIQQEKKNMYELQKL;
 RYLEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKL;
 RYLEANITALLEQAQIIQQEKNEYELQKL;
 NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
 5 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDE;
 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLIE;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDK;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDE;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE;
 10 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLE;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAK;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAE;
 TALLEQAQIQQEKAEYELQKLE;
 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLE;
 15 TALLEQAQIQQEKGEYELQKLE;
 TALLEQAQIQQEKAEYELQKLAK;
 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAK;
 TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAK;
 TALLEQAQIQQEKAEYELQKLAE;
 20 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAE;
 TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAE;
 DEFDAISQVNEKINQSLAFIRKSDELL;
 DEYDAISQVNEKINQALAYIREADEL;
 DEYDAISQVNEEINQALAYIRKADEL;
 25 DEFDEISQVNEKIEESLAFIRKSDELL;
 DEFDEISQVNEKIEESLAFIRKSDEL; nebo QHWSYGLRPG
 (SEQ ID No. 1279, 1280, 1282 - 1285, a 1278 - 1309); a kde
 alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu
 je konjugovaný s polyolem.

18. Hybridní polypeptid podle nároku 17, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec polypeptidového jádra.

5 19. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na polypeptidové jádro; kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje WQEWQKI (SEQ ID No. 1129) nebo WASLWEWF (SEQ ID No. 1433); kde polypeptidové jádro zahrnuje následující aminokyselinové sekvence

10 YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
LEENITALLEEAQIQQEKKNMYELQKLNS;
LEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKLNS;
NYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL;
DFLEENITALLEEAQIQQEKKNMYELQKL;
15 RYLEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKL;
RYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL;
NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDE;
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLIE;
20 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDK;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDE;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLE;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAK;
25 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAE;
TALLEQAQIQQEKAIEYELQKLE;
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLE;
TALLEQAQIQQEKGEYELQKLE;
TALLEQAQIQQEKAIEYELQKLAK;
30 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAK;
TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAK;

TALLEQAQIQQEKA EYELQKLAE;
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAE;
TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAE;
DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL;
5 DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL;
DEYDASISQVNEEINQALAYIRKADEL;
DEFDESISQVNEKIEESLAFIRDSDELL;
DEFDESISQVNEKIEESLAFIRDSDEL; nebo QHWSYGLRPG
(SEQ ID No. 1278 - 1285 a 1287 - 1309); a kde alespoň jeden
10 aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu je konjugovaný
s polyolem.

20. Hybridní polypeptid podle nároku 19, kde zesilující peptidová
15 sekvence je navázána na aminový konec polypeptidového
jádra.

21. Hybridní polypeptid podle nároku 20, který dále obsahuje
zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec
polypeptidového jádra.

20 22. Hybridní polypeptid podle nároku 19, kde zesilující peptidová
sekvence je navázána na karboxylový konec polypeptidového
jádra.

25 23. Hybridní polypeptid podle nároku 19, kde hybridní polypeptid
obsahuje aminokyselinovou sekvenci WQEWEQKITALLEQAQI-
-QKEKIEYELQKLIEWEWF (SEQ ID No. 1311).

24. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na polypeptidové jádro; kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje karboxykoncové sekvence WXXWXXXI, WXXWXXX, WXXWXX, WXXWX, WXXW, WXXXWXWX, XXXWXWX, XXWXWX, XWXWX, WXWX, WXXXWXW, WXXXWX, WXXXW, IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW, XWXXW, XWXWXXXW, XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX, XWXW, WXWXXXW nebo XWXXXW; kde polypeptidové jádro obsahuje následující aminokyselinové sekvence
- LEENITALLEEAIQQEKNMYELQKLNS;
 LEANISQSLEQAIIQQEKNMYELQKLNS;
 DFLEENITALLEEAIQQEKNMYELQKL;
 RYLEANISQSLEQAIIQQEKNMYELQKL;
 RYLEANITALLEQAIIQQEKNEYELQKL;
 NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
 TALLEQAIIQQEKNEYELQKLDE;
 TALLEQAIIQQEKNEYELQKLIE;
 TALLEQAIIQQEKIEYELQKLDK;
 TALLEQAIIQQEKIEYELQKLDE;
 TALLEQAIIQQEKIEYELQKLIE;
 TALLEQAIIQQEKIEYELQKLE;
 TALLEQAIIQQEKIEYELQKLAK;
 TALLEQAIIQQEKIEYELQKLAE;
 TALLEQAIIQQEKAIEYELQKLE;
 TALLEQAIIQQEKNEYELQKLE;
 TALLEQAIIQQEKGEYELQKLE;
 TALLEQAIIQQEKAIEYELQKLAK;
 TALLEQAIIQQEKNEYELQKLAK;
 TALLEQAIIQQEKGEYELQKLAK;
 TALLEQAIIQQEKAIEYELQKLAE;
 TALLEQAIIQQEKNEYELQKLAE;
 TALLEQAIIQQEKGEYELQKLAE;

DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL;

DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL;

DEYDASISQVNEEINQALAYIRKADEL;

DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL;

5 DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDEL; nebo QHWSYGLRPG
(SEQ ID No. 1279, 1280 a 1282 - 1285 a 1287 - 1309); a kde
alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu
je konjugovaný s polyolem.

10 25. Hybridní polypeptid podle nároku 24, který dále obsahuje
zesilující peptidovou sekvenci navázanou na aminový konec
polypeptidového jádra.

15 26. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci
navázanou na polypeptidové jádro; kde zesilující peptidová
sekvence je navázána na aminový konec polypeptidového
jádra a obsahuje aminokoncové sekvence WXXWXXXI,
WXXWXXX, WXXWXX, WXXWX, WXXW, WXXXWXWX,
XXXWXWX, XXWXWX, XWXWX, WXWX, WXXXWXW,
20 WXXXWX, WXXXW, IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW,
XWXXW, XWXWXXXW, XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX,
XWXW, WXWXXXW nebo XWXXXW; kde polypeptidové jádro
obsahuje NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL(SEQ ID No.
1281); a kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního
25 polypeptidu je konjugovaný s polyolem.

27. Hybridní polypeptid podle nároku 26, který dále obsahuje
zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec
polypeptidového jádra.

28. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na polypeptidové jádro, kde zesilující peptidová sekvence je navázána na karboxylový konec polypeptidového jádra a obsahuje karboxykoncové sekvence WXXWXXXI, WXXWXXX, WXXWXX, WXXWX, WXXW, WXXXWXWX, XXXWXWX, XXWXWX, XWXWX, WXWX, WXXXWXW, WXXXWX, WXXXW, IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW, XWXXW, XWXWXXXW, XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX, XWXW, WXWXXXW nebo XWXXXW; kde polypeptidové jádro obsahuje NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL (SEQ ID No. 1281); a kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu je konjugovaný s polyolem.
29. Hybridní polypeptid podle nároku 28, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci navázanou na aminový konec polypeptidového jádra.
30. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na aminový konec polypeptidového jádra; kde zesilující peptidová sekvence zahrnuje aminokyselinové sekvence WXXWXXXI, WXXWXXX, WXXWXX, WXXWX, WXXW, WXXXWXWX, XXXWXWX, XXWXWX, XWXWX, WXWX, WXXXWXW, WXXXWX, WXXXW, IXXXWXXW, XXXWXXW, XXWXXW, XWXXW, XWXWXXXW, XWXWXXX, XWXWXX, XWXWX, XWXW, WXWXXXW nebo XWXXXW; kde polypeptidové jádro obsahuje YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK (SEQ ID No. 1278); a kde alespoň jeden aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu je konjugovaný s polyolem.

31. Hybridní polypeptid podle nároku 30, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec polypeptidového jádra.

5 32. Hybridní polypeptid obsahující polypeptidové jádro navázané na zesilující peptidovou sekvenci; kde polypeptidové jádro zahrnuje následující aminokyselinové sekvence

YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
LEENITALLEEAAQIQQEKKNMYELQKLNS;
10 LEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKLNS;
NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLEL;
DFLEENITALLEEAAQIQQEKKNMYELQKL;
RYLEANISQSLEQAQIQQEKKNMYELQKL;
RYLEANITALLEQAQIQQEKNEYELQKL;
15 NNYTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDK;
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLDE;
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLIE;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDE;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDE;
20 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLE;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAK;
TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAE;
TALLEQAQIQQEKAEYELQKLE;
25 TALLEQAQIQQEKNEYELQKLE;
TALLEQAQIQQEKGEYELQKLE;
TALLEQAQIQQEKAEYELQKLAK;
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAK;
TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAK;
30 TALLEQAQIQQEKAEYELQKLAE;
TALLEQAQIQQEKNEYELQKLAE;

TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAE;
DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL;
DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL;
DEYDASISQVNEEINQALAYIRKADEL;
5 DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL;
DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDEL; nebo QHWSYGLRPG
(SEQ ID No. 1278 - 1285 a 1287 - 1309); kde zesilující
peptidová sekvence zahrnuje WQEWEQKI (SEQ ID No. 1129)
nebo WASLWEWF (SEQ ID No. 1433); a kde alespoň jeden
10 aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu je konjugovaný
s polyolem.

33. Hybridní polypeptid podle nároku 32, kde zesilující peptidová
sekvence je navázána na aminový konec polypeptidového
15 jádra.

34. Hybridní polypeptid podle nároku 33, který dále obsahuje
zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec
polypeptidového jádra.

35. Hybridní polypeptid podle nároku 32, kde zesilující peptidová
sekvence je navázána na karboxylový konec polypeptidového
jádra.

25 36. Polypeptid obsahující aminokyselinovou sekvenci VYPSDEY-
-DASISQVNEEINQALAYIRKADELLENV, kde alespoň jeden
aminokyselinový zbytek tohoto polypeptidu je konjugovaný
s polyolem.

37. Hybridní polypeptid obsahující zesilující peptidovou sekvenci navázanou na polypeptidové jádro; kde polypeptidové jádro zahrnuje následující aminokyselinové sekvence

LEENITALLEEAAQIQQEKNMYELQKLNS;
 5 LEANISQSLEQAQIQQEKNMYELQKLNS;
 DFLEENITALLEEAAQIQQEKNMYELQKL;
 RYLEANISQSLEQAQIQQEKNMYELQKL;
 RYLEANITALLEQAQIQQEKNMYELQKL;
 TALLEQAQIQQEKNMYELQKLDE;
 10 TALLEQAQIQQEKNMYELQKLIE;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDE;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLDE;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLIE;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLE;
 15 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAK;
 TALLEQAQIQQEKIEYELQKLAE;
 TALLEQAQIQQEKAIEYELQKLE;
 TALLEQAQIQQEKNMYELQKLE;
 TALLEQAQIQQEKGEYELQKLE;
 20 TALLEQAQIQQEKAIEYELQKLAK;
 TALLEQAQIQQEKNMYELQKLAK;
 TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAK;
 TALLEQAQIQQEKAIEYELQKLAE;
 TALLEQAQIQQEKNMYELQKLAE;
 25 TALLEQAQIQQEKGEYELQKLAE;
 DEYDASISQVNEKINQALAYIREADEL;
 DEYDASISQVNEEINQALAYIRKADEL;
 DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDELL; nebo
 DEFDESISQVNEKIEESLAFIRKSDEL (SEQ ID No. 1279, 1280,
 30 1282 - 1284 a 1287 - 1303, 1305 - 1308); a kde alespoň jeden
 aminokyselinový zbytek hybridního polypeptidu je konjugovaný
 s polyolem.

- 5
38. Hybridní polypeptid podle nároku 37, kde zesilující peptidová sekvence je navázána na aminový konec polypeptidového jádra.
39. Hybridní polypeptid podle nároku 38, který dále obsahuje zesilující peptidovou sekvenci navázanou na karboxylový konec polypeptidového jádra.
- 10
40. Hybridní polypeptid podle nároku 37, kde zesilující peptidová sekvence je navázána na karboxylový konec polypeptidového jádra.
- 15
41. Hybridní polypeptid podle některého z nároků 2 až 4, 6 až 7, 11 až 35 a 37 až 40, který dále obsahuje aminokoncovou acetylovou skupinu a karboxykoncovou amidovou skupinu.
- 20
42. Polypeptid podle některého z nároků 5, 8, 9, 10 a 36, který dále obsahuje aminokoncovou acetylovou skupinu a karboxykoncovou amidovou skupinu.
- 25
43. Hybridní polypeptid podle některého z nároků 2 až 4, 6 až 7, 11 až 35 a 37 až 40, kde polypeptidové jádro je terapeuticky aktivní látka.
44. Polypeptid podle některého z nároků 5, 8, 9, 10 a 36, kde polypeptidové jádro je terapeuticky aktivní látka.

5 45. Hybridní polypeptid podle některého z nároků 2 až 4, 6 až 7, 11 až 35 a 37 až 40, kde polypeptidové jádro je biologicky aktivní peptid, růstový faktor, cytokin, diferenciační faktor, interleukin, interferon, faktor stimulující tvorbu kolonií, hormon nebo angiogenní faktor.

10 46. Polypeptid podle některého z nároků 5, 8, 9, 10 a 36, kde polypeptidové jádro je biologicky aktivní peptid, růstový faktor, cytokin, diferenciační faktor, interleukin, interferon, faktor stimulující tvorbu kolonií, hormon nebo angiogenní faktor.

15 47. Hybridní polypeptid podle některého z nároků 2 až 4, 6 až 7, 11 až 35 a 37 až 40, kde polyolem je poly(propylenglykol), polyethylen-propylenglykol nebo poly(ethylenglykol).

48. Hybridní polypeptid podle nároku 47, kde polyolem je polyol s přímým řetězcem.

20 49. Hybridní polypeptid podle nároku 47, kde polyolem je polyol s rozvětveným řetězcem.

25 50. Polypeptid podle některého z nároků 5, 8, 9, 10 a 36, kde polyolem je poly(propylenglykol), polyethylen-propylenglykol nebo poly(ethylenglykol).

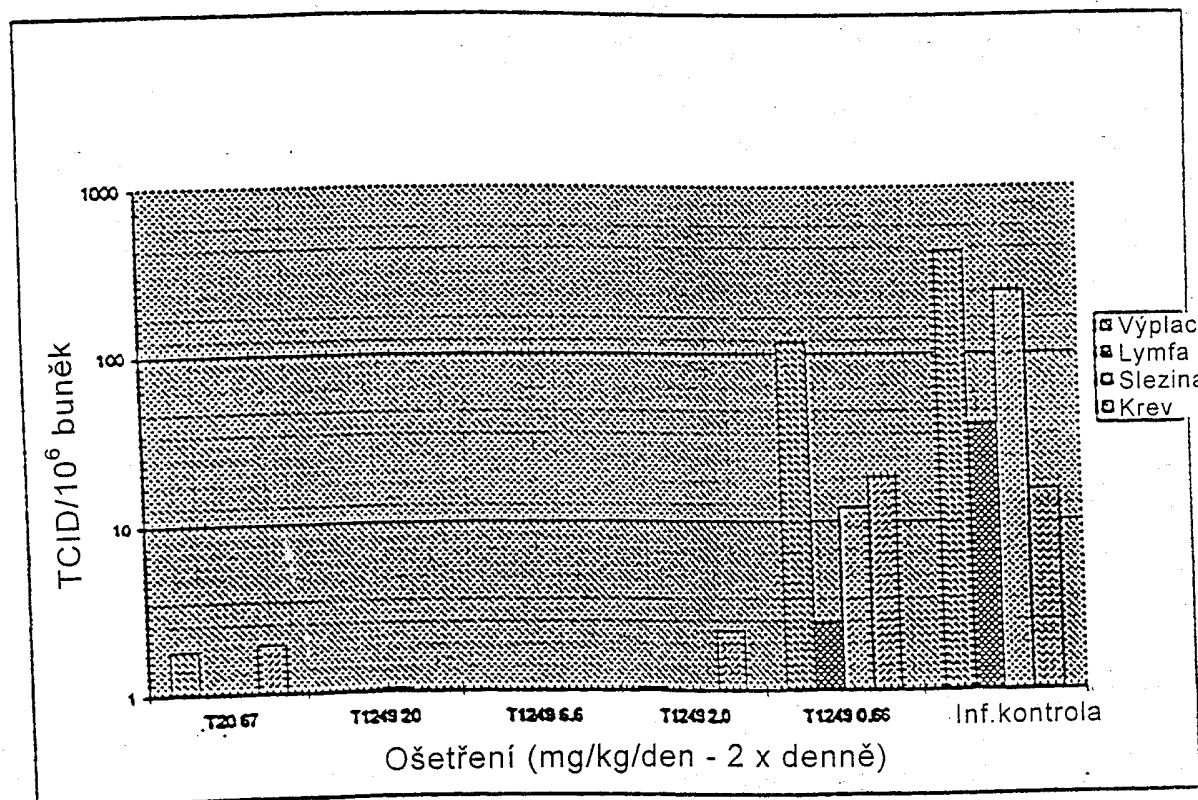
51. Polypeptid podle nároku 50, kde polyolem je polyol s přímým řetězcem.

52. Polypeptid podle nároku 50, kde polyolem je polyol s rozvětveným řetězcem.

12.03.02

PV 2002-88

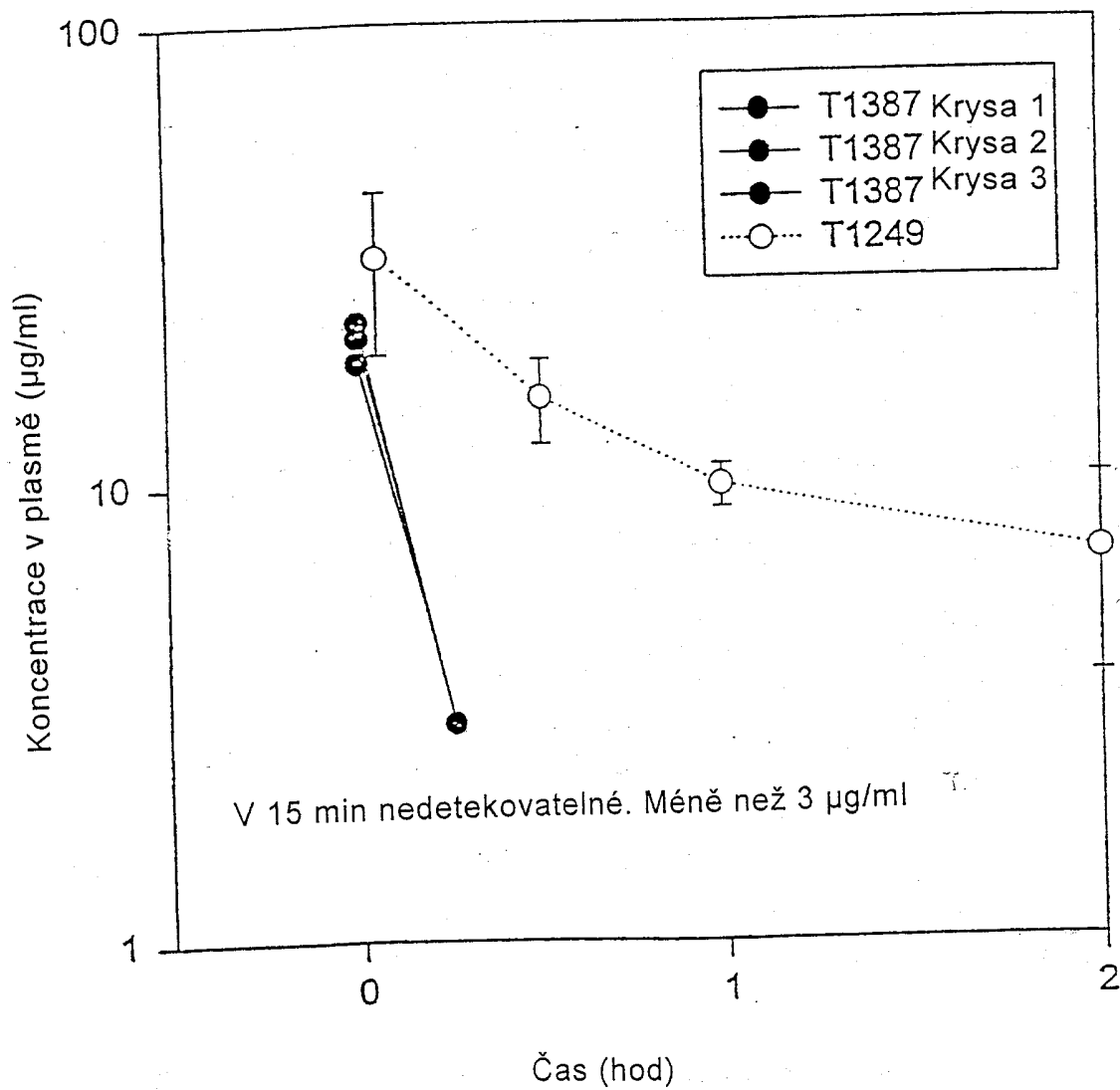
19492



Obr. 3

12.03.02

PV 2002 - 88
19492

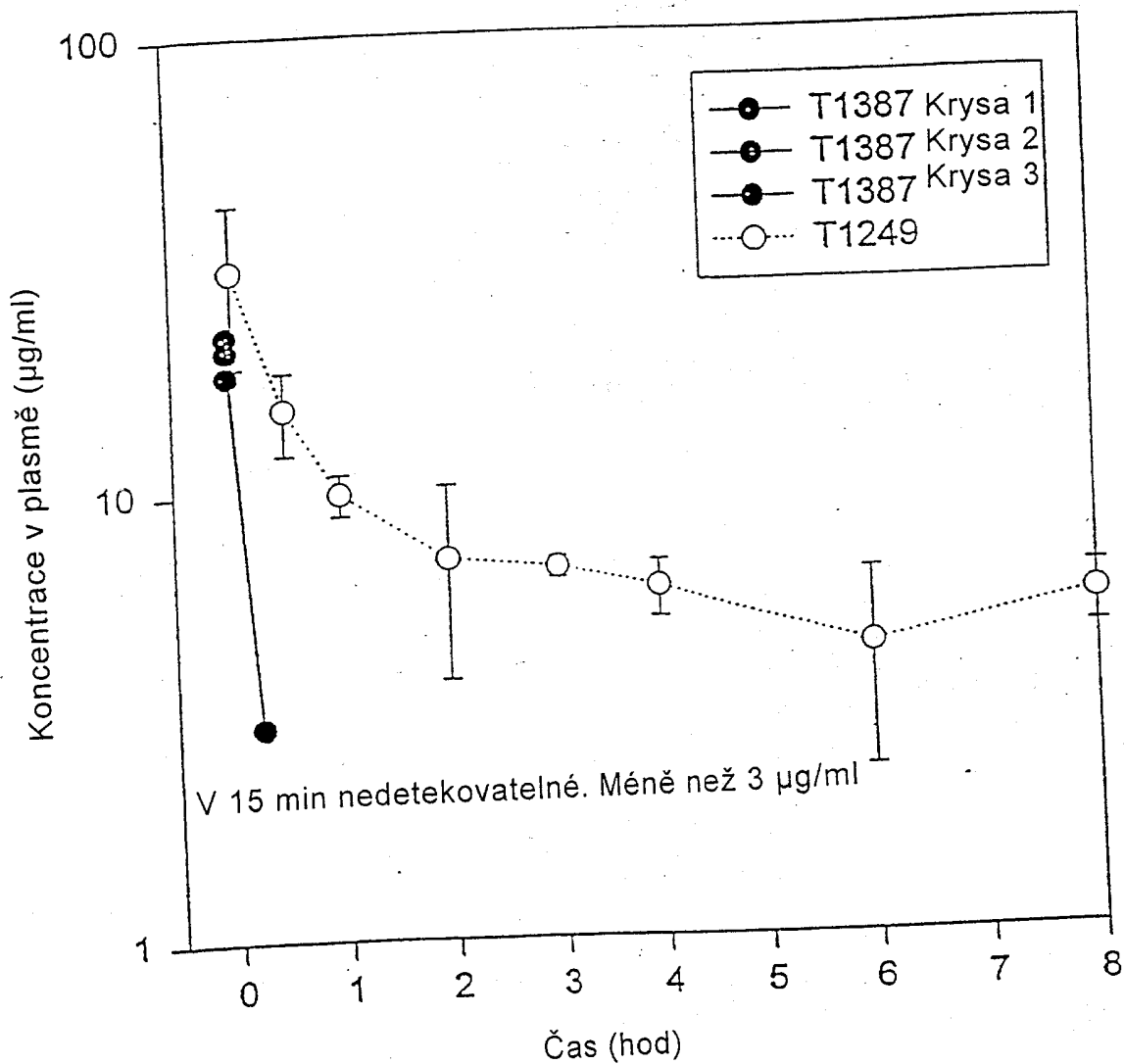


Obr. 4A

12.03.02

PV 2002 - 88

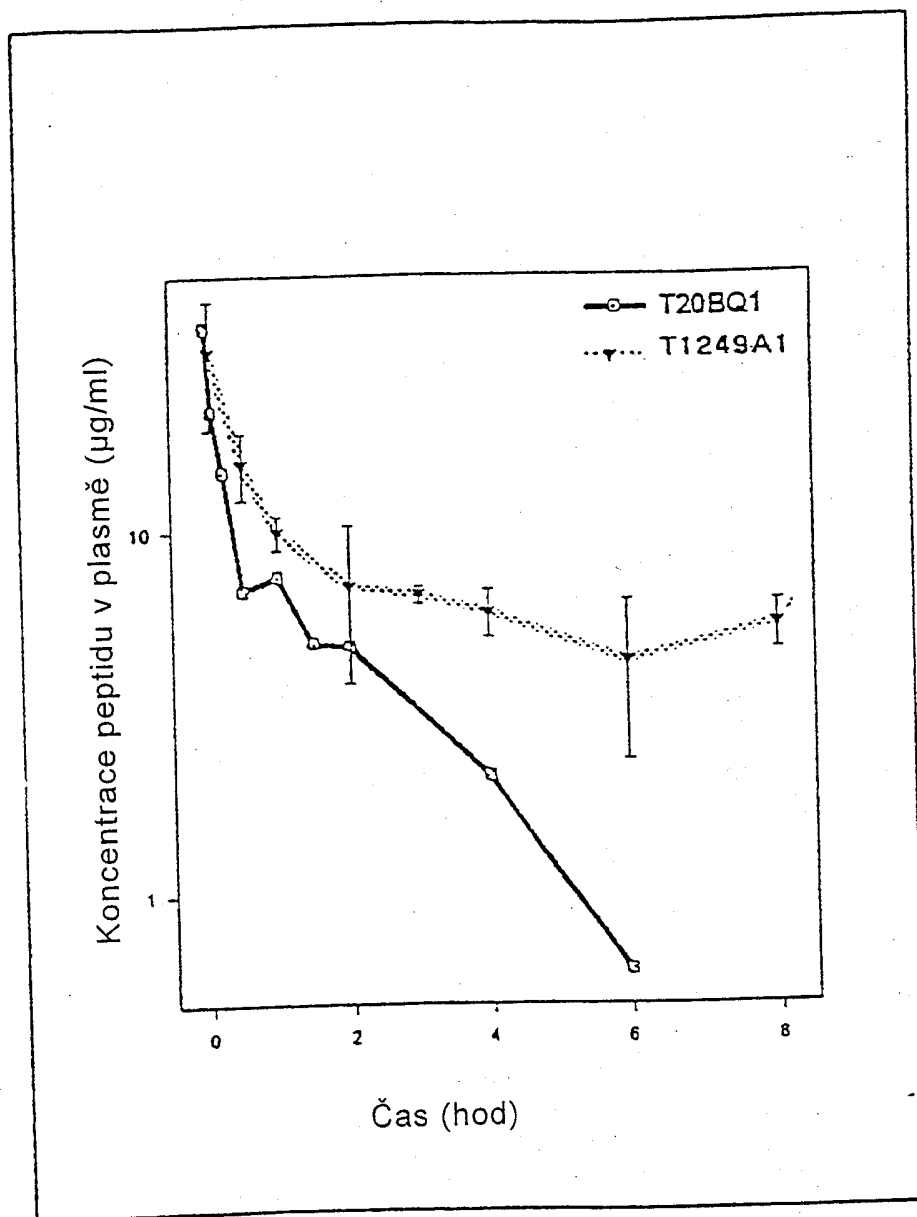
19/4/92



Obr. 4B

12:03:02

PV 2002 - 88
19492



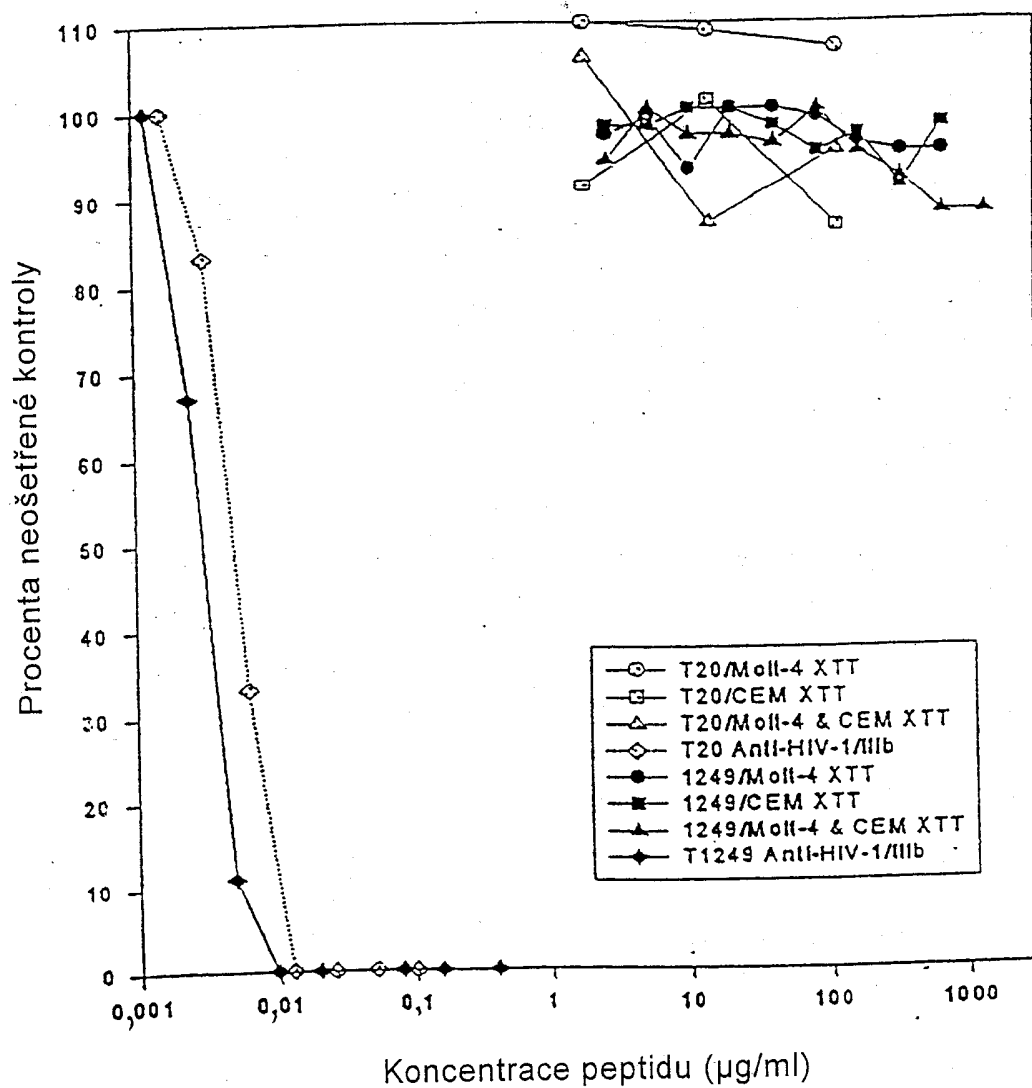
Farmakokinetické parametry		T20BQ1	T1249A1
Dávka (mg/kg i.v.)		2,5	2,5
Metoda detekce		Fluorescence HPLC	Fluorescence HPLC
$T_{1/2\beta}$ (h)		1,6	4,71
Cl_{β} (ml/hod)		27,94	9,62
$AUC_{(0-\beta)}$ (µg.hod/ml)		26,12	71,43

Obr. 5

12.03.02

PV 2002 - 88

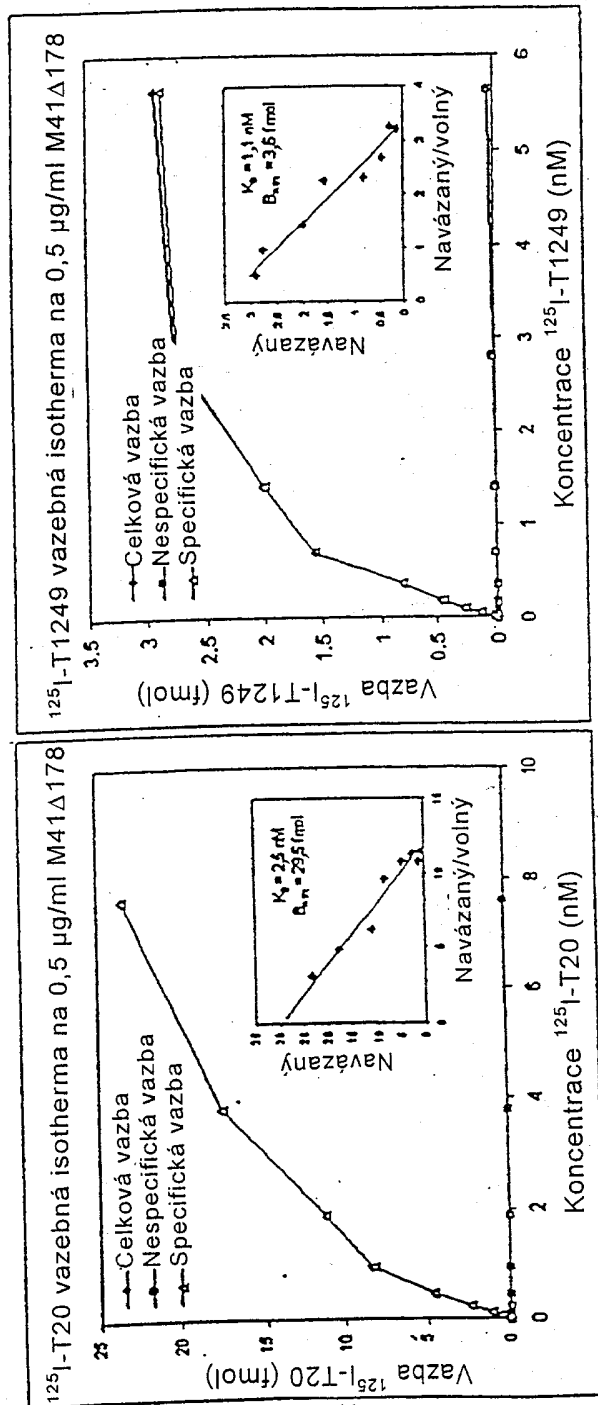
19.4.92



Obr. 6

12.03.00

PV 2002-88
19/92

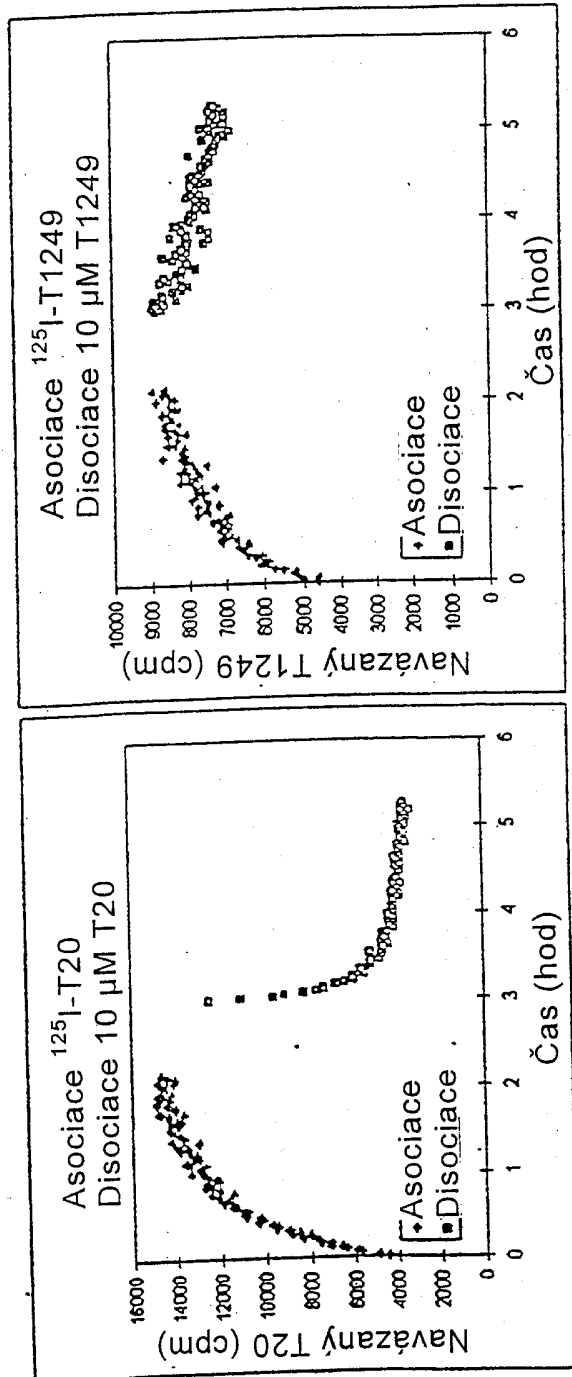


Obr. 7

12.03.02

PV 2002 - 88

19/4/92



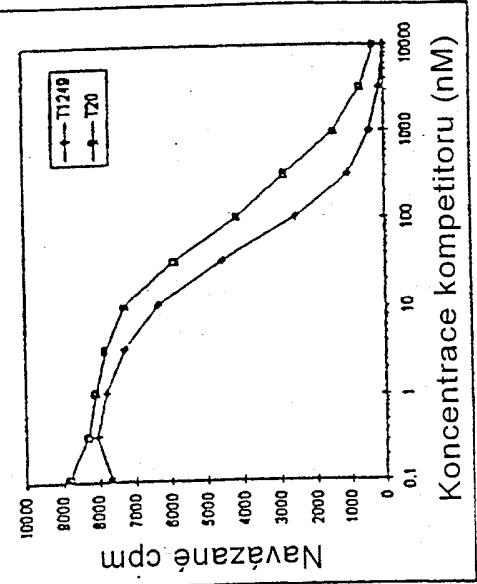
Obr. 8

12.03.02

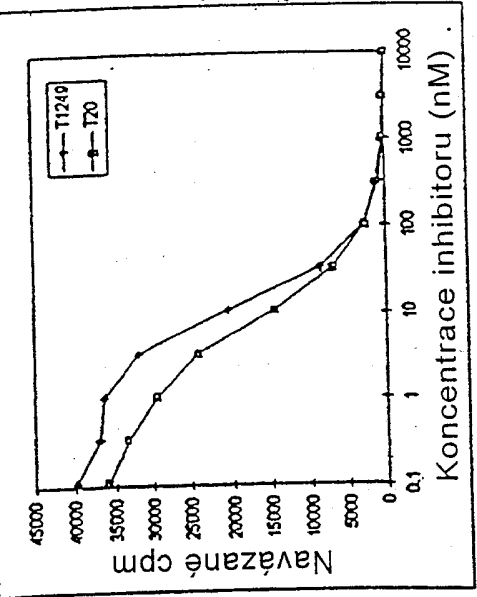
PV 2002-88

19492

Soutěžení o vazbu ^{125}I -T1249 na M41 Δ 178



Soutěžení o vazbu ^{125}I -T20 na M41 Δ 178

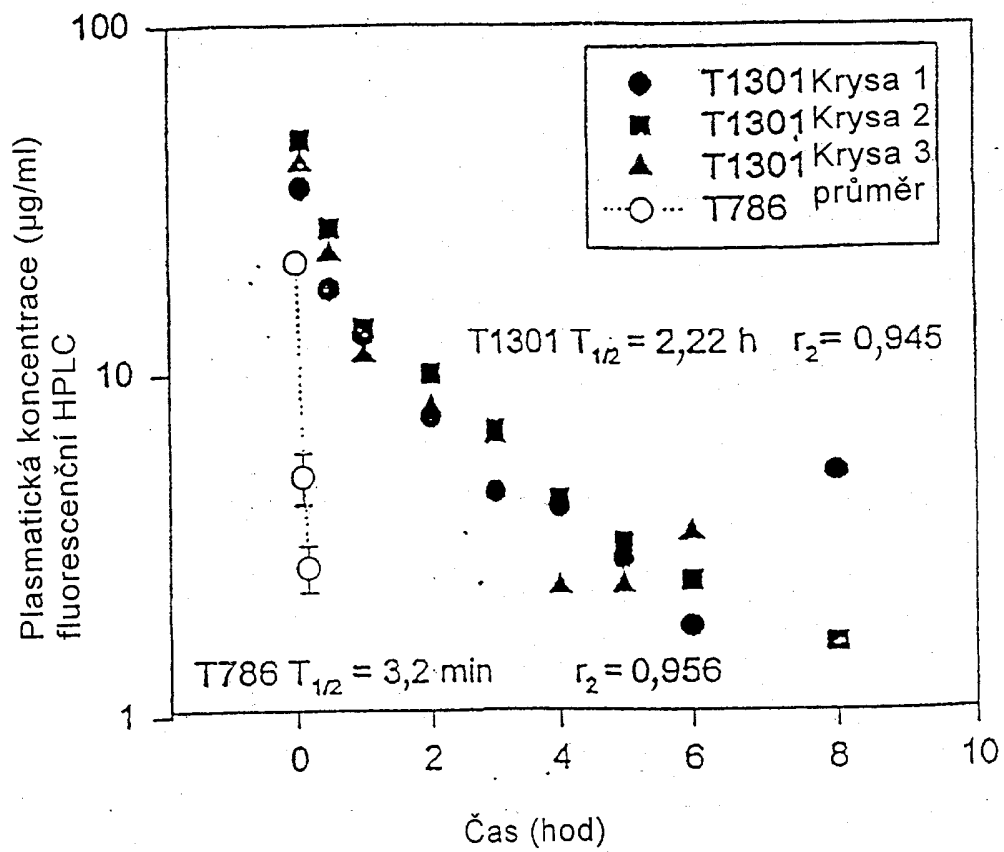


Obr. 9

12.03.02

PV 2002-88

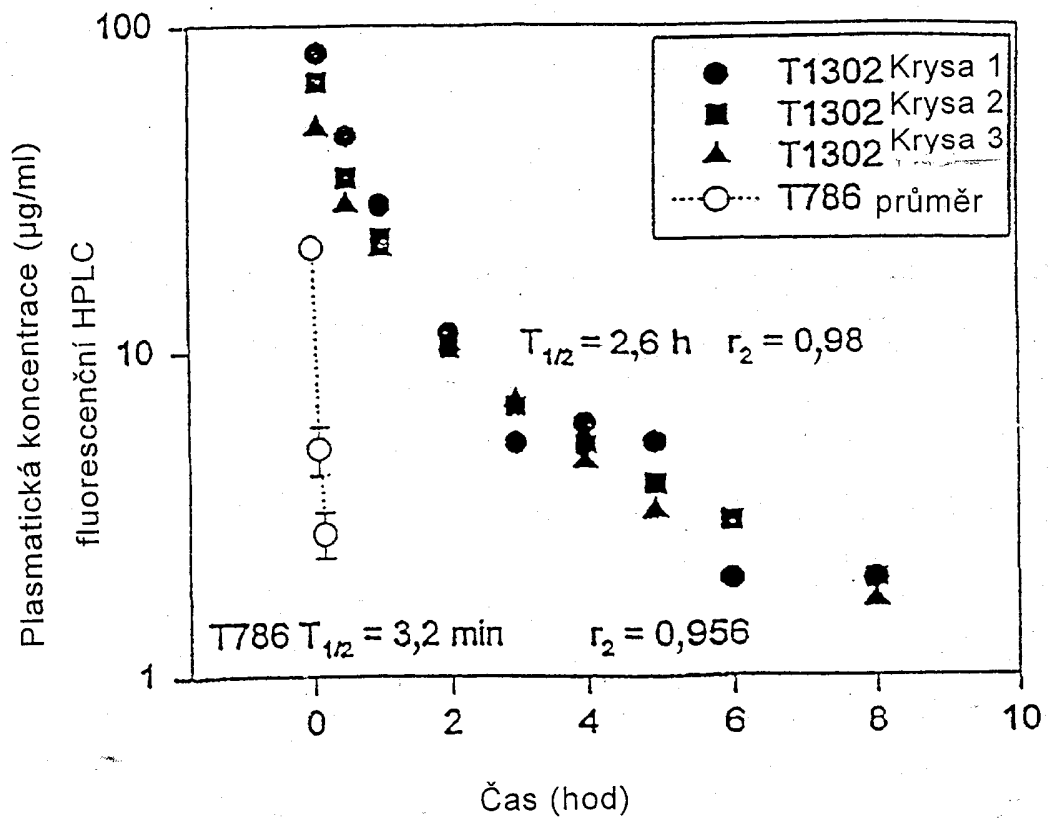
19/4/92



Obr. 10A

12.03.02

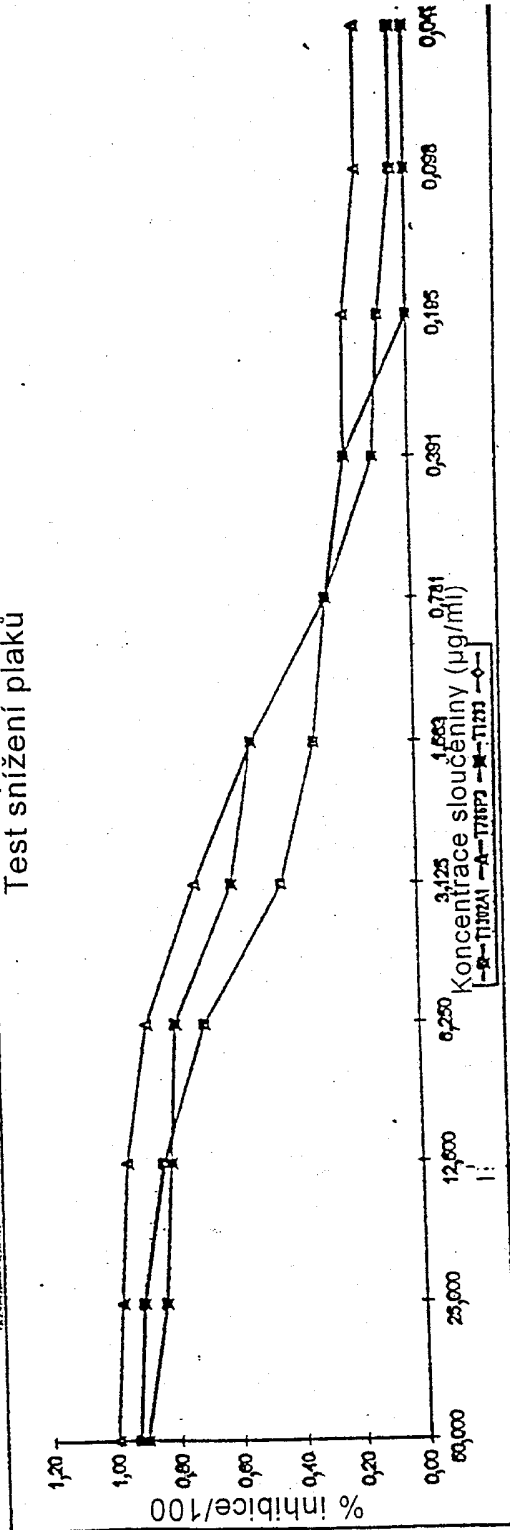
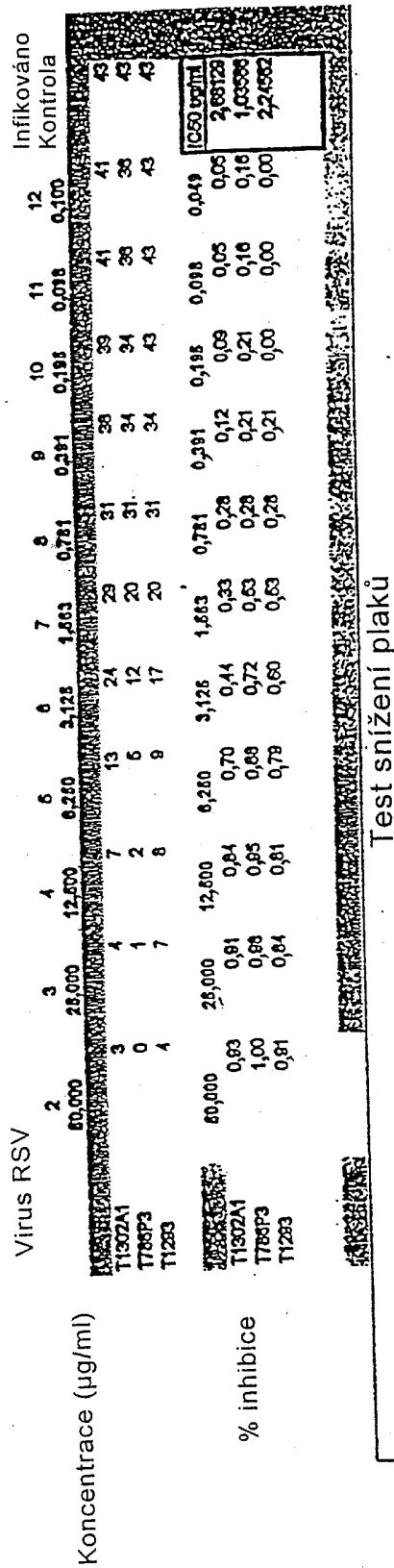
PV-2002-88
19492



Obr. 10B

10.03.02

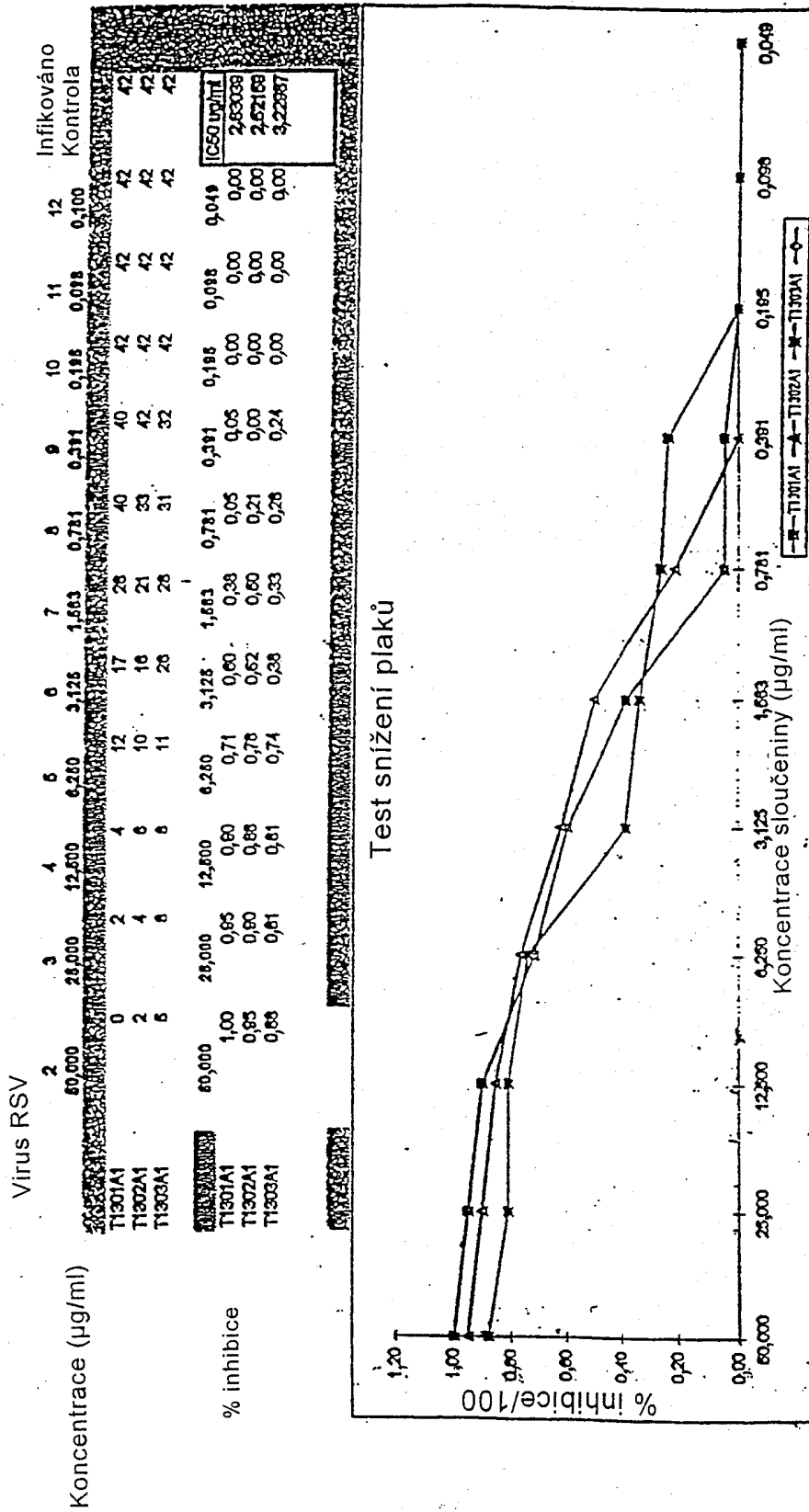
PV 2002-88
19492



Obr. 11A

12.03.02

PV 2002-88
19/4/92

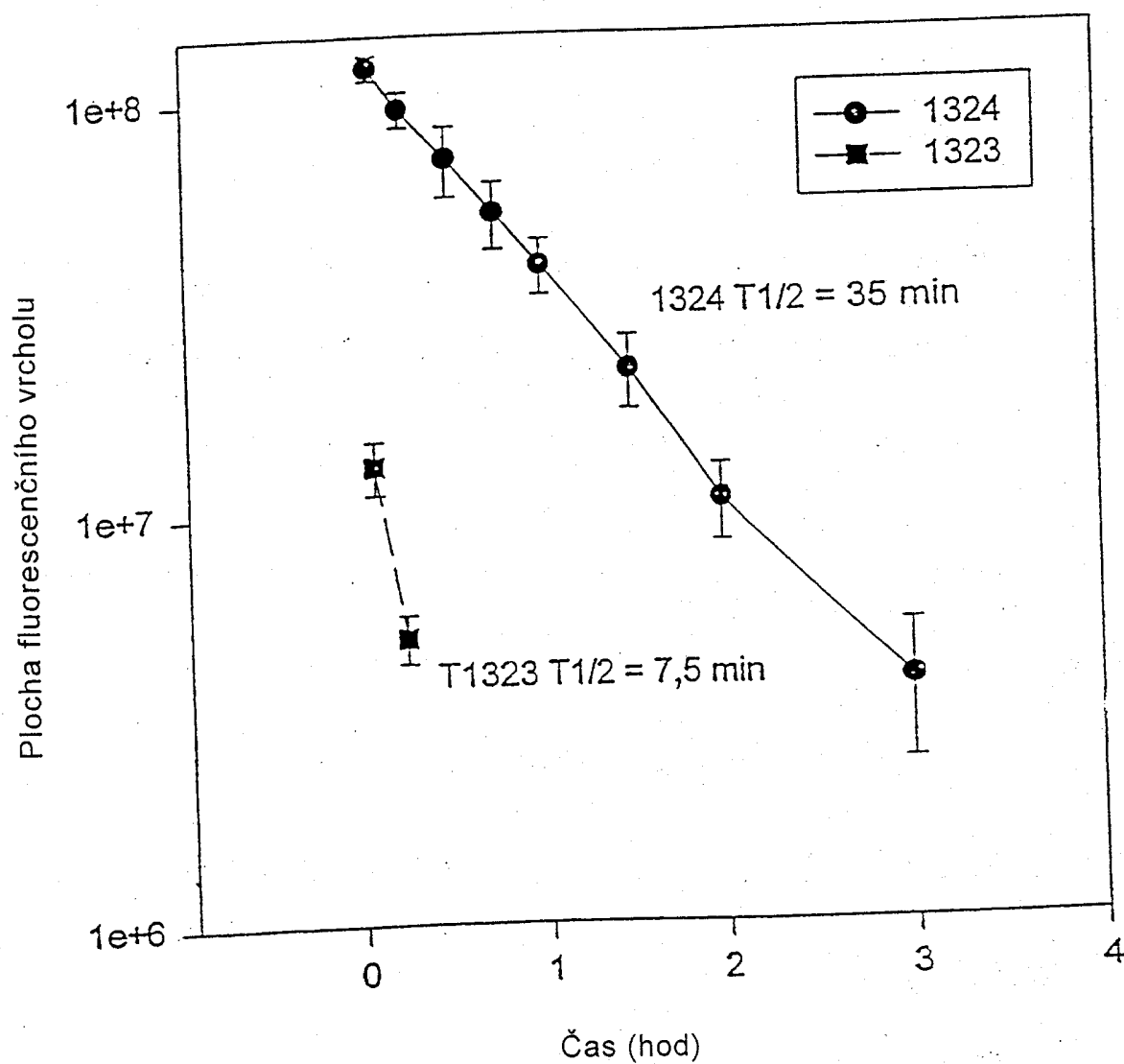


Obr. 11B

10.03.02

PV 2002-88

19/492

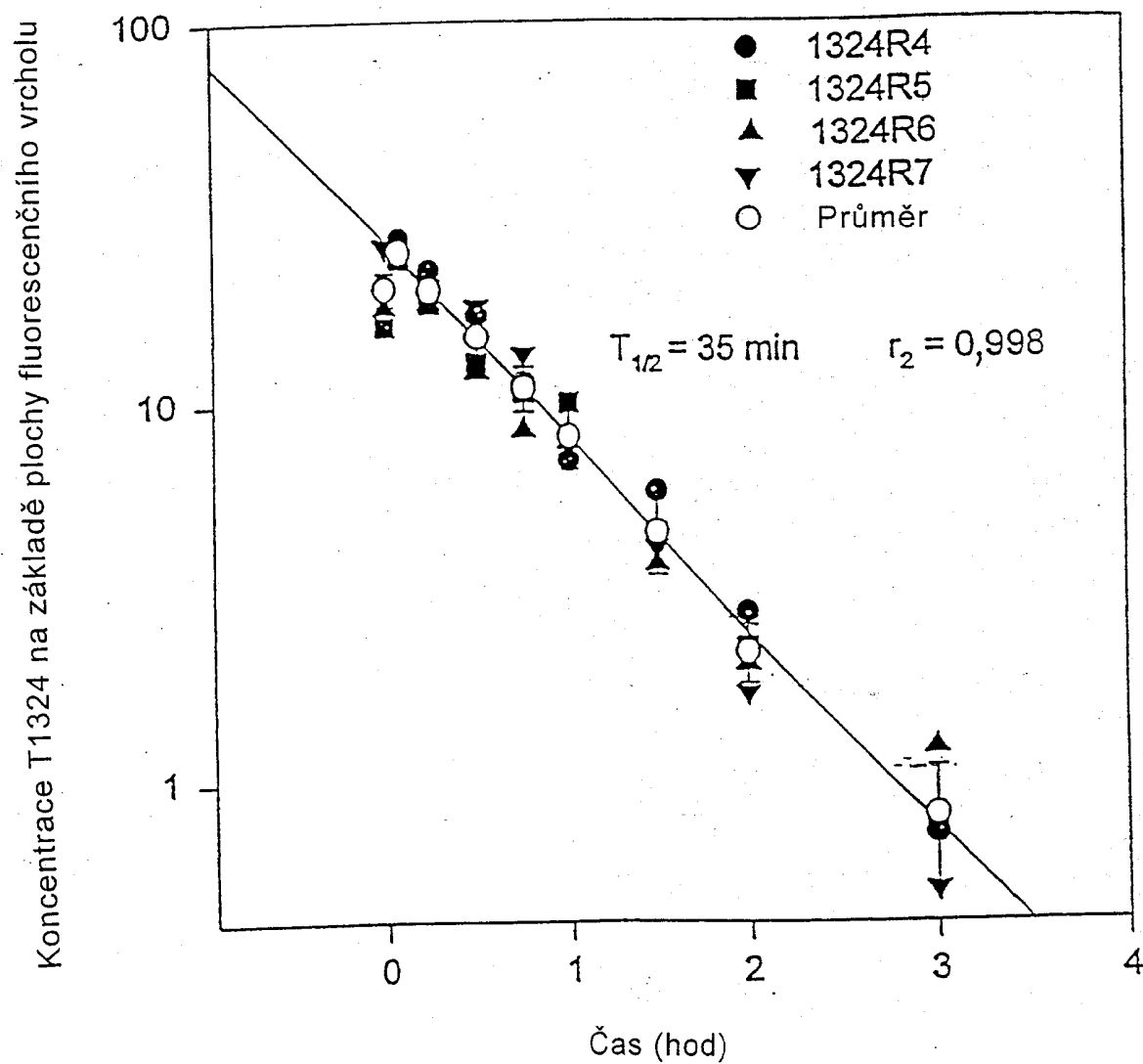


Obr. 12A

12.03.02

PV 2002-88

19492



Obr. 12B

0000

PV 2002-88
19492

Trimer No.	IP		HIV-1	RSV
	11/2		Fúze	Fúze
	NNMTWMEWDREINNNTSLIHSLIEESQNQKEKNEQELLELDK WASLWNWF		EC-50 ng/ml	EC-50 ng/ml
	Peptid			
HIV-1 T20	Ac-	YTSLSIHSLIEESQNQKEKNEQELLELDK WASLWNWF	-NH2	1,5h HIV-1 T20
HIV-1 T379	Ac-	YTSLSIHSLIEESQNQKEKNEQELLELDK WASLWNWF	-NH2	20m HIV-1 T379
SIV T402	Ac-	LEENITALLLEEAQIQKEKNMYELQKLS	-NH2	20m SIV T402
HIV-2 T698	Ac-	LEANISQSLEQAQIQKEKNMYELQKLS	-NH2	<20m HIV-2 T698
HIV-1 T649	Ac-	WMEWDREINNNTSLIHSLIEESQNQKEKNEQELLELDK	-NH2	20m HIV-1 T649
SIV T391	Ac-	WQEWERKVDFFLEENITALLLEEAQIQKEKNMYELQKL	-NH2	20m SIV T391
HIV-2 T856	Ac-	WQEWQKVRYLEANISQSLEQAQIQKEKNMYELQKL	-NH2	20m HIV-2 T856
HYBRID T1052	Ac-	WQEWQKVRYLEANITALLLEQAQIQKEKNEQELLELDK	-NH2	20m HYBRID T1052
HIV-1 T625	Ac-	MTWMEWDREINNNTSLIHSLIEESQNQKEKNEQELLELDK	-NH2	>4h HIV-1 T625
HIV-1 T866	Ac-	DREINNNTSLIHSLIEESQNQKEKNEQELLELDK	-NH2	>4h HIV-1 T866
HIV-1 T867	Ac-	NNMTWMEWDREINNNTSLIHSLIEESQNQKEKNEQELLELDK	-NH2	20m HIV-1 T867

Obr. 13A

PV 2002-88
19492

Obr. 13B

10000

PV 2002-88
19/492

HYBRID T1351	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLAIE	WAGLWAW	-N12	HYBRID T1351	8	20897
HYBRID T1349	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLAIE	WASLWAW	-N12	HYBRID T1349	86	15326
HYBRID T1352	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLAIE	WAGLWAW	-N12	HYBRID T1352	193	14358
HYBRID T1339	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLDK	WEWF	-N12 45m	HYBRID T1339	13	367
HYBRID T1293	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WEWF	-N12 2,6h	HYBRID T1293	11	3085
HYBRID T1337	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WEWF	-N12	HYBRID T1337	4	21618
HYBRID T1338	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WEWF	-N12	HYBRID T1338	234	579
HYBRID T1294	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WASLWAW	-N12	HYBRID T1294	32	7774
HYBRID T1309	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WASLWAW	-N12	HYBRID T1309	153	>50000
HYBRID T1281	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WEWF	-N12	HYBRID T1281	3	34597
HYBRID T1282	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WEWF	-N12	HYBRID T1282	4	3090
HYBRID T1283	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WEWF	-N12	HYBRID T1283	33	2393
HYBRID T1284	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WEWF	-N12	HYBRID T1284	31	21022
HYBRID T1295	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WASLWAW	-N12	HYBRID T1295	60	>50000
HYBRID T1295	Ac-	WQWEQKI	TALLEQAQIQQEKNE	YELQKLIIE	WASLWAW	-N12	HYBRID T1295	60	>50000

IV

Biologická aktivita

RSV

Fúze

Fúze

EC-50

EC-50

ng/ml

ng/ml

RSV T67	Ac-	DEFDASISQVNEKINQSLAFIRKSDELL	-N12 <5m	RSV T67	500
RSV T786	Ac-	VYPSDEYIDASISQVNEEINQALAYIRKIADELL	-N12 <8m	RSV T786	1200
RSV T786	Ac-	VYPSDEYIDASISQVNEEINQALAYIRKIADELL	-N12 <8m	RSV T786	3085

Hybridy

Sekvence aktivního jádra T67

HYBRID T1138

HYBRID T1155

HYBRID T1137

HYBRID T1156

HYBRID T1157

HYBRID T1158

HYBRID T1170

HYBRID T1138	Ac-	YTSLSLHSLG	DEFDE	SISQVNEKIE	ESLAFIRKSDELL	GGWASLWNWF	HYBRID T1138	1000
HYBRID T1155	Ac-	YTSLSLHSLG	DEFDE	SISQVNEKIE	ESLAFIRKSDELL	GGWNNWF	HYBRID T1155	200
HYBRID T1137	Ac-	YTSLSLHSLG	DEFDE	SISQVNEKIE	ESLAFIRKSDELL	GGWNNWF	HYBRID T1137	750
HYBRID T1156	Ac-	YTSLSLHSLG	DEFDE	SISQVNEKIE	ESLAFIRKSDELL	GGWASLWNWF	HYBRID T1156	3000
HYBRID T1157	Ac-	YTSLSLHSLG	DEFDE	SISQVNEKIE	ESLAFIRKSDELL	GGWNNWF	HYBRID T1157	2900
HYBRID T1158	Ac-	YTSLSLHSLG	DEFDE	SISQVNEKIE	ESLAFIRKSDELL	GGWNNWF	HYBRID T1158	2900
HYBRID T1170	Ac-	YTSLSLHSLG	DEFDE	SISQVNEKIE	ESLAFIRKSDELL	GGWNNWF	HYBRID T1170	2900

Obr. 13C

100300

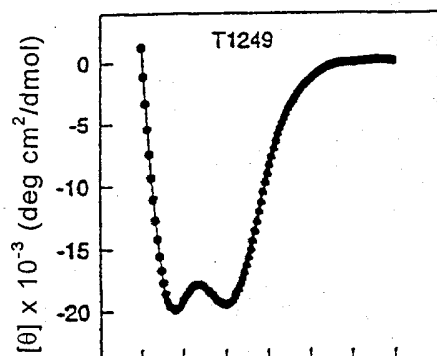
PV 2002-88
19/4/92

HIV-1/HIV-2/RSV Hybridy			
T1474	Ac-	DEYDASISQVNEKINQALAYIRE	ADEL
T1475	Ac-	DEYDASISQVNEEINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1285	Ac-	DEYDASISQVNEKINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1288	Ac-	DEYDASISQVNEEINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1286	Ac-	DEYDASISQVNEKINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1289	Ac-	DEYDASISQVNEEINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1287	Ac-	DEYDASISQVNEKINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1290	Ac-	DEYDASISQVNEEINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1291	Ac-	DEYDASISQVNEKINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1292	Ac-	DEYDASISQVNEEINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1291	Ac-	DEYDASISQVNEKINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1292	Ac-	DEYDASISQVNEEINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1301	Ac-	DEYDASISQVNEKINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1302	Ac-	DEYDASISQVNEEINQALAYIRE	ADEL
HYBRID T1303	Ac-	DEYDASISQVNEKINQALAYIRE	ADEL
LH-RH T1323	Ac-	QHW SYGLRPG	
HIV-1/HIV-2/LH-RH Hybridy			
HYBRID T1326	Ac- W N W F	QHW SYGLRPG	W N W F
HYBRID T1327	Ac- F N F F	QHW SYGLRPG	F N F F
HYBRID T1328	Ac- G A G A	QHW SYGLRPG	G A G A
HYBRID T1324	Ac-	QHW SYGLRPG	W A S L W E W F
HYBRID T1325	Ac-	QHW SYGLRPG	W E W F
HYBRID T1325	Ac-	QHW SYGLRPG	W E W F
HYBRID T1354	Ac-	QHW SYGLRPG	W E W F
HYBRID T1355	Ac-	QHW SYGLRPG	W A W F
Sekvence jádra LH-RH			
HYBRID T1326	N/A	HYBRID T1326	N/A
HYBRID T1327	N/A	HYBRID T1327	N/A
HYBRID T1328	N/A	HYBRID T1328	N/A
HYBRID T1324	N/A	HYBRID T1324	N/A
HYBRID T1325	N/A	HYBRID T1325	N/A
HYBRID T1354	N/A	HYBRID T1354	N/A
HYBRID T1355	N/A	HYBRID T1355	N/A
Sekvence aktivního jádra T786			
T1474	-N12	W E W F	1800
T1475	-N12	W E W F	
HYBRID T1285	-N12	W E W F	
HYBRID T1288	-N12	W E W F	
HYBRID T1286	-N12	W E W F	
HYBRID T1289	-N12	W E W F	
HYBRID T1287	-N12	W E W F	1900
HYBRID T1290	-N12	W E W F	3200
HYBRID T1291	-N12	W E W F	2000
HYBRID T1292	-N12	W E W F	3900
HYBRID T1301	-N12	W A W F	1200
HYBRID T1302	-N12	W A W F	2000
HYBRID T1303	-N12	W E W F	1200
LH-RH T1323	-N12 7m		N/A
Sekvence jádra LH-RH			
HYBRID T1326	-N12	W N W F	N/A
HYBRID T1327	-N12	F N F F	N/A
HYBRID T1328	-N12	G A G A	N/A
HYBRID T1324	-N12 35m	W A S L W E W F	N/A
HYBRID T1325	-N12	W E W F	N/A
HYBRID T1354	-N12	W E W F	N/A
HYBRID T1355	-N12	W A W F	N/A

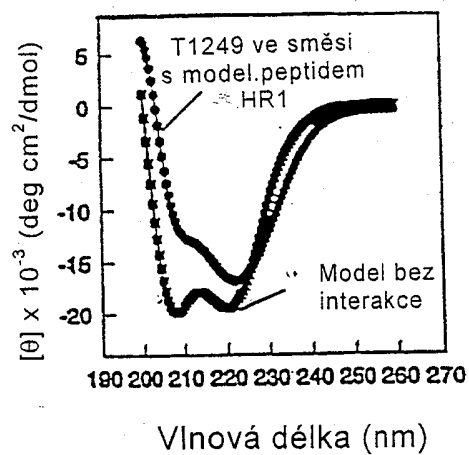
12.03.02

PV 2002-88

19492



Obr. 14A

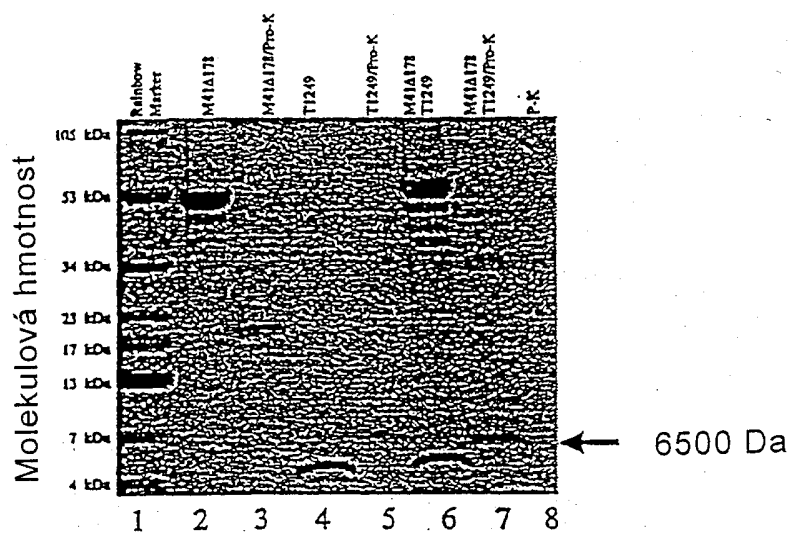


Obr. 14B

12.03.02

PV 2002-88

19492

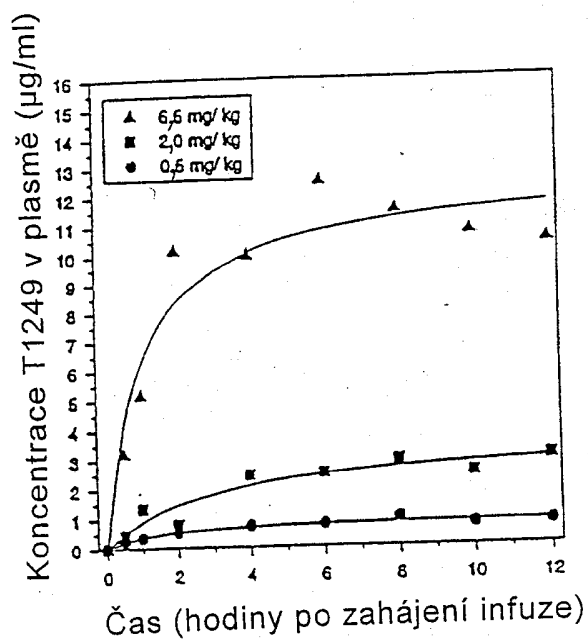


Obr. 15

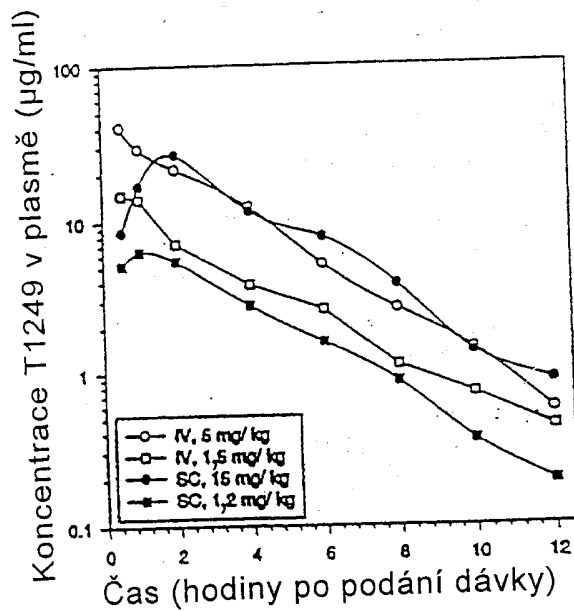
12.03.02

PV 2002 - 88

19492



Obr. 16A

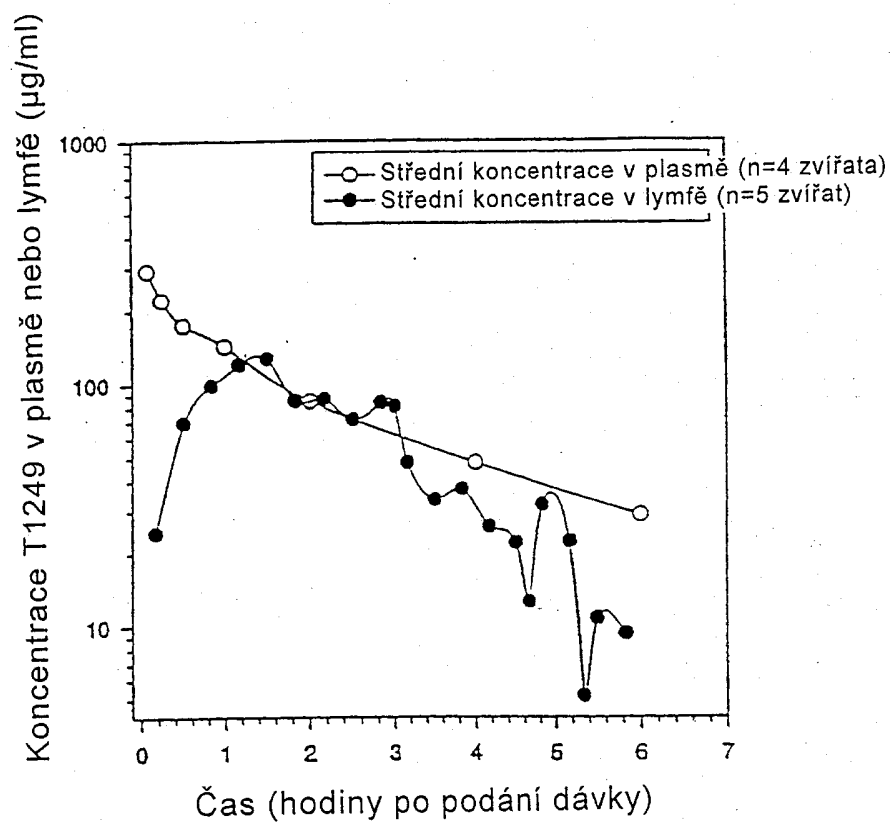


Obr. 16B

12.03.02

PV 2002-88

19/492

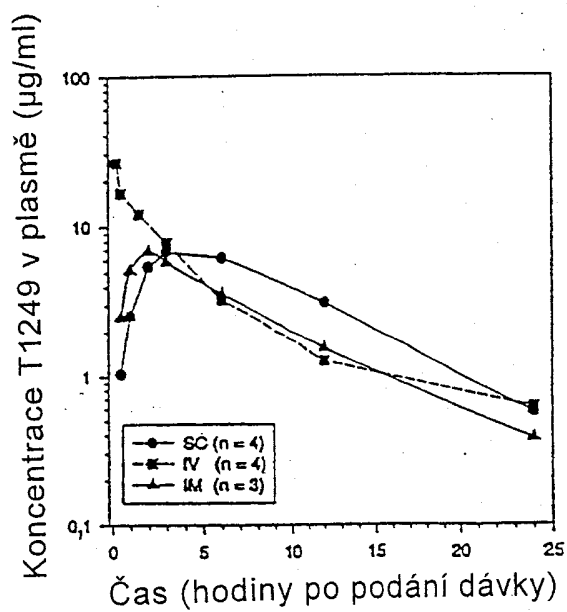


Obr. 16C

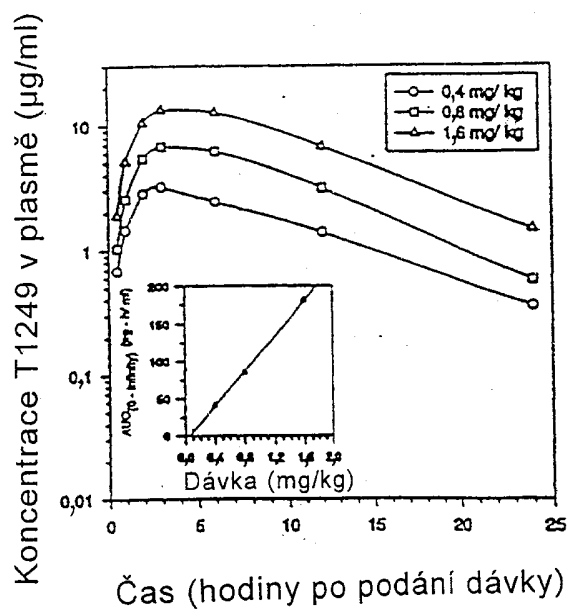
12.03.02

PV 2002-88

19492



Obr. 17A

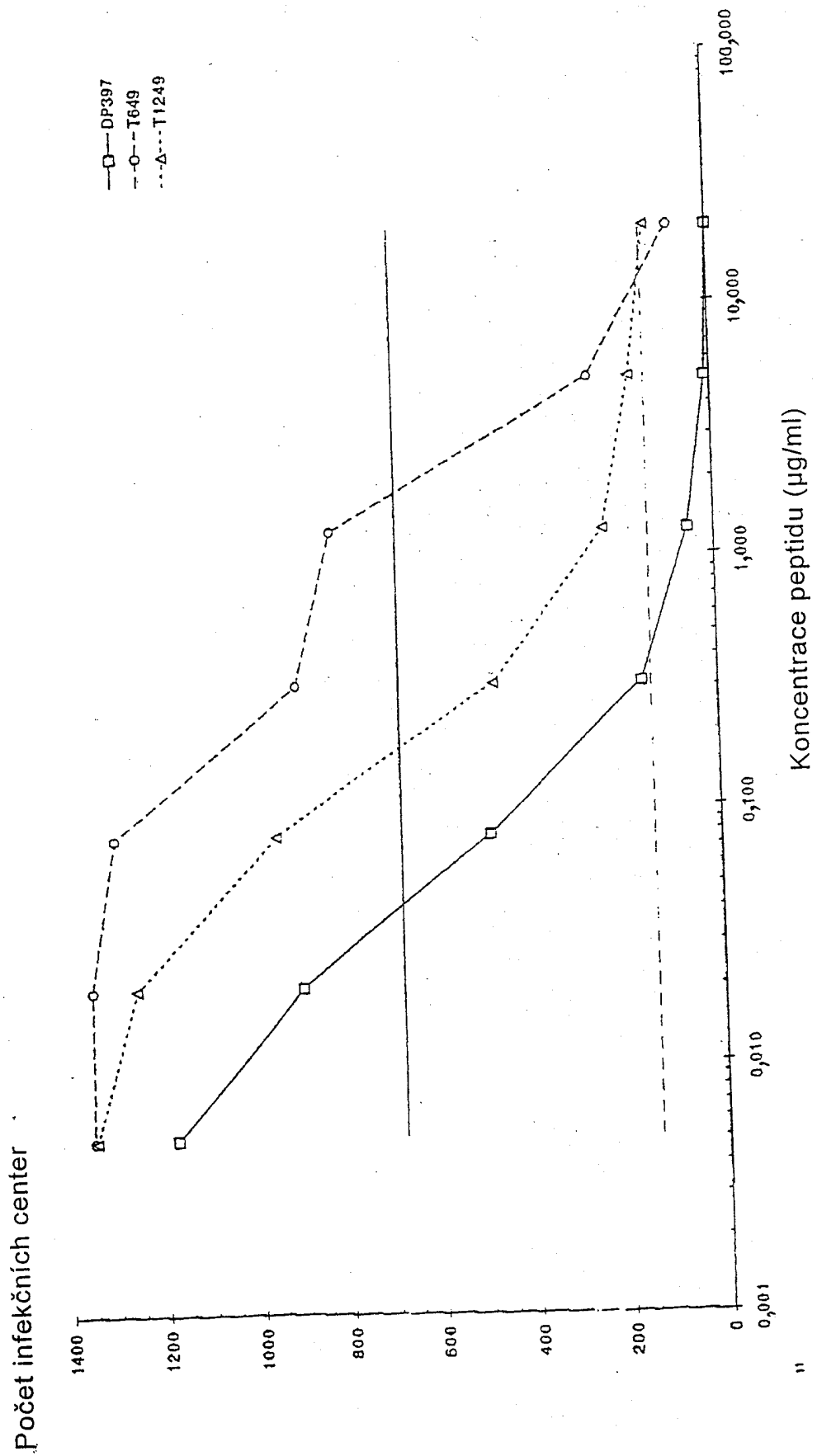


Obr. 17B

12:03:00

PV 2002-88

19492

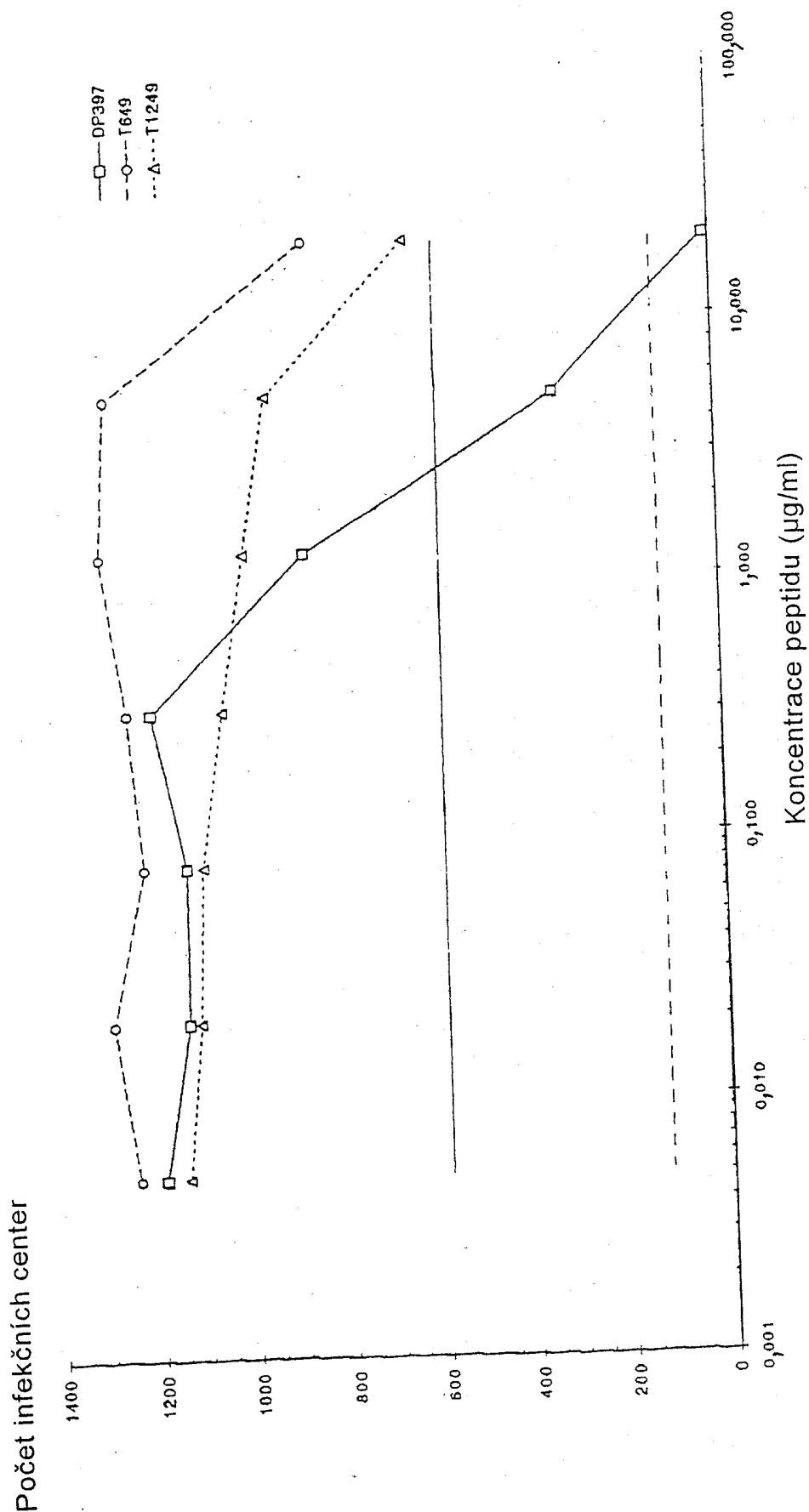


Obr. 18A

12.03.02

PV 2002-88

19492

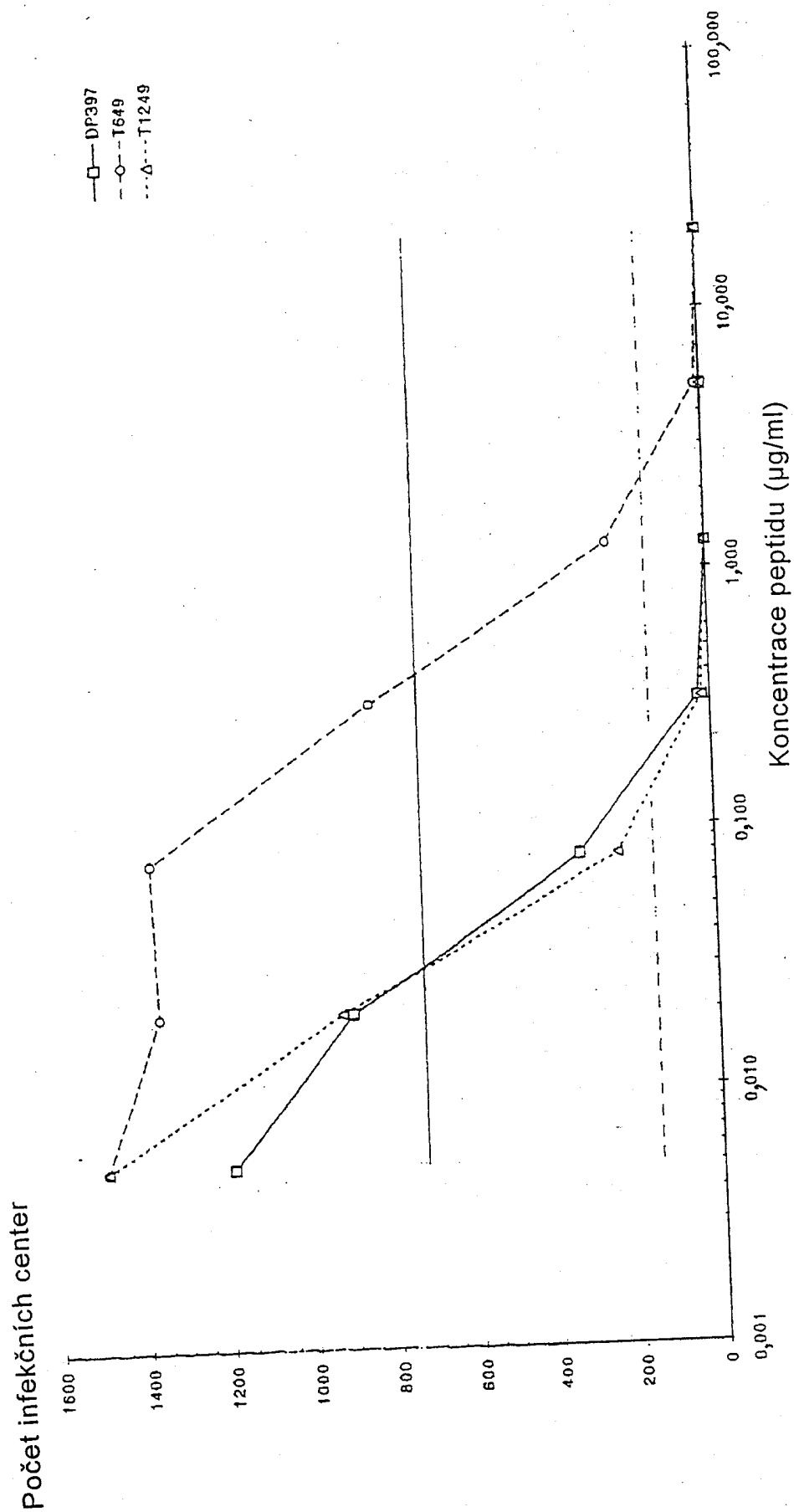


Obr. 18B

12.03.02

PK-2002-88

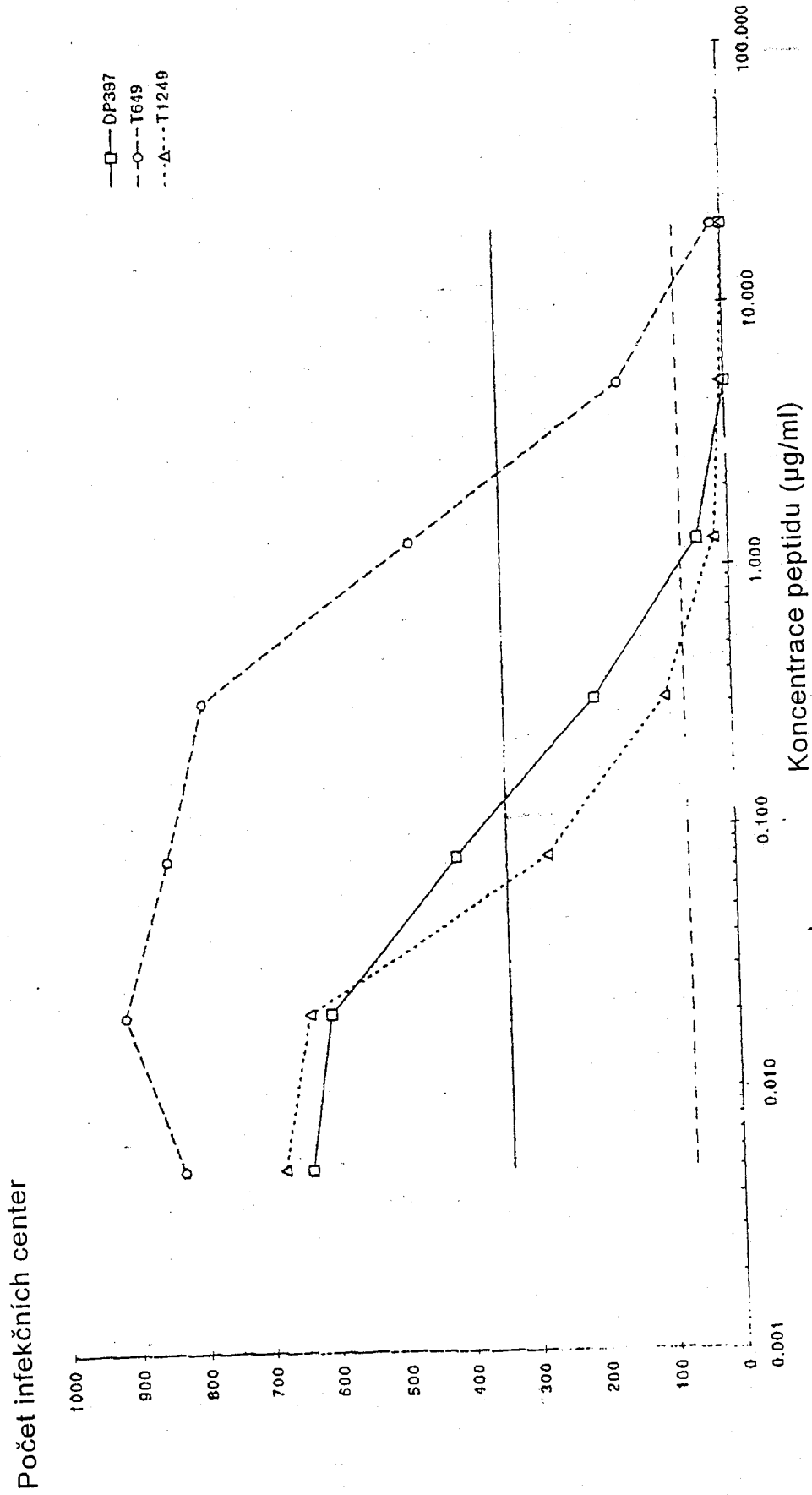
19492



Obr. 18C

12.03.02

PV 2002-88
19492



Obr. 18D