



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 113699133 B

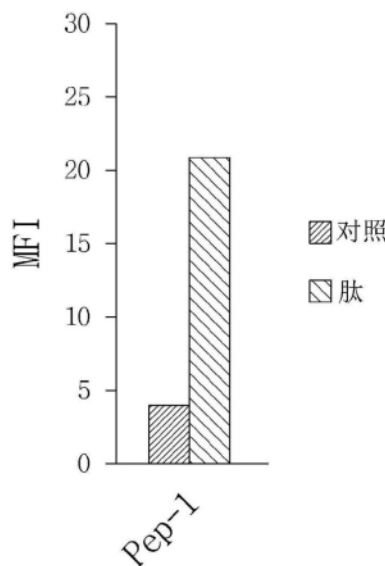
(45) 授权公告日 2024.07.23

(21) 申请号 202111025572.1	(51) Int.Cl.	
(22) 申请日 2013.09.17	C12N 9/12 (2006.01)	
(65) 同一申请的已公布的文献号	C12N 15/54 (2006.01)	
申请公布号 CN 113699133 A	C07K 5/087 (2006.01)	
(43) 申请公布日 2021.11.26	C07K 5/09 (2006.01)	
(30) 优先权数据	C07K 5/11 (2006.01)	
10-2012-0104173 2012.09.19 KR	C07K 5/083 (2006.01)	
10-2012-0104144 2012.09.19 KR	C07K 5/103 (2006.01)	
10-2012-0109207 2012.09.28 KR	C07K 5/097 (2006.01)	
10-2012-0109216 2012.09.28 KR	C07K 5/117 (2006.01)	
10-2013-0017046 2013.02.18 KR	C07K 5/107 (2006.01)	
(62) 分案原申请数据	C07K 5/093 (2006.01)	
201380057894.1 2013.09.17	C07K 5/113 (2006.01)	
(73) 专利权人 珍白斯凯尔有限公司	A61K 8/64 (2006.01)	
地址 韩国大田广域市	A61Q 19/00 (2006.01)	
专利权人 金商在	A61K 47/64 (2017.01)	
(72) 发明人 金商在	A61K 49/14 (2006.01)	
(74) 专利代理机构 北京三友知识产权代理有限公司 11127	A61K 49/04 (2006.01)	(续)
专利代理师 庞东成 张培源	(56) 对比文件	
	CN 1313773 A, 2001.09.19	(续)
	审查员 林薇	

权利要求书1页 说明书24页
序列表43页 附图42页

(54) 发明名称
细胞穿透肽、包含其的缀合物、及应用

(57) 摘要
本发明公开了细胞穿透肽、包含其的缀合物及其应用。具体而言,本发明公开了具有SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中一种序列的细胞穿透肽、包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中一种序列的片段的肽的缀合物、或包含与所述肽序列具有至少80%同源性的肽的缀合物、和包含所述缀合物的组合物。



CN 113699133 B

[接上页]

(51) Int.Cl.

A23L 33/18 (2016.01)

(56) 对比文件

Else-Marit Inderberg-Suso等

.Widespread CD4+ T-cell reactivity to novel hTERT epitopes following vaccination of cancer patients with a single hTERT peptide GV1001. 《OncoImmunology》.2012,第670-686页.

1. 一种肽在制备包含需要被运送的货物的组合物中的应用,其中,所述肽是细胞穿透载体肽,所述细胞穿透载体肽将货物运送到细胞中,并且

其中,所述细胞穿透载体肽为由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5至SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:23至SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28至SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:34至SEQ ID NO 44、SEQ ID NO:46至SEQ ID NO 48、SEQ ID NO:50至SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58至SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:64中任意一种氨基酸序列构成的肽,

其中,所述货物为对比造影剂。

2. 如权利要求1所述的应用,其中,所述载体肽由30个或更少氨基酸构成。

3. 如权利要求1所述的应用,其中,所述载体肽通过共价键与所述货物直接缀合或通过共价键与所述货物经接头间接缀合。

4. 如权利要求1所述的应用,其中,所述载体肽及所述货物通过非共价键缀合。

5. 如权利要求1所述的应用,其中,所述对比造影剂选自自由不透射线对比造影剂、顺磁对比造影剂、超顺磁对比造影剂及CT对比造影剂组成的组。

6. 如权利要求1所述的应用,其中,所述对比造影剂基于铁。

7. 如权利要求6所述的应用,其中,所述对比造影剂为二茂铁羧酸盐。

8. 如权利要求1所述的应用,其中所述组合物是对比造影剂。

9. 如权利要求8所述的应用,其中,所述对比造影剂用于对比造影细胞。

10. 如权利要求9所述的应用,其中,所述细胞为干细胞。

11. 一种细胞穿透肽,其中,所述细胞穿透肽由SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5至SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:23至SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28至SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:34至SEQ ID NO 44、SEQ ID NO:46至SEQ ID NO 48、SEQ ID NO:50至SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:58至SEQ ID NO:61、SEQ ID NO:63和SEQ ID NO:64中任一氨基酸序列构成。

12. 一种多核苷酸,所述多核苷酸编码权利要求11所述的细胞穿透肽。

13. 一种载体,所述载体包含权利要求12所述的多核苷酸。

14. 一种转化细胞,所述转化细胞包含权利要求13所述的载体。

细胞穿透肽、包含其的缀合物、及应用

[0001] 本申请是申请号为201710451503.4、递交日为2017年6月15日、发明名称为“细胞穿透肽、包含该肽的缀合物、及包含该缀合物的组合物”的发明专利申请的分案申请。

[0002] 而申请号为201710451503.4的发明专利申请又是申请号为201380057894.1(国际申请号为PCT/KR2013/008459,国际申请日为2013年09月17日,进入中国国家阶段的进入日为2015年05月05日,发明名称为“细胞穿透肽、包含该肽的缀合物、及包含该缀合物的组合物”)的申请的申请的分案申请。

技术领域

[0003] 本发明涉及源自人端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase;hTERT)的细胞穿透肽、细胞穿透肽及活性成分的缀合物、以及包含该缀合物的组合物。

背景技术

[0004] 尽管低分子量物质、核酸、蛋白质、纳米粒子等在分子水平上具有作为治疗物质的极大可能性潜力,但低分子量物质、核酸、蛋白质、粒子等的使用其应用由于不能无能力穿透组织及细胞膜而受限。输送此类物质至细胞内的系统的开发展已成为过去二十年来活跃的研究领域。细胞内部运输物质已成为分子处理治疗方法中的的话题。低分子量物质、核酸或纳米粒子通过系通过多种若干试剂、电穿孔或热休克而运送到运输到细胞内。然而,难以找到一种适当方法在不破坏蛋白质的活性及完整性的情况下将蛋白质输送到在细胞内部输送蛋白质。在20世纪80年代,在对人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus;HIV)的细胞穿透能力进行的研究中,已发现,由特定的11种个氨基酸构组成的的HIV-TAT蛋白质在于在向细胞内部的运输的过程中起重要作用。因此,在20世纪90年代,探索运输到细胞内蛋白质将蛋白质运输到细胞内的恰当方法的研究成为重点研究领域。

[0005] 已知端粒是染色体末端发现的遗传物质重复序列,端粒防止染色体损伤或防止合并至其它染色体上。端粒的长度在每次细胞分裂时缩短,且在一定次数的细胞分裂的后,端粒长度极度缩短至细胞停止分裂且死亡的程度。在另一方面,已知端粒延伸可延长细胞的寿命。作为实例,癌细胞分泌称为端粒酶的酶,该酶防止端粒缩短,因此导致癌细胞增殖。

[0006] 本发明的目标在于提供一种新型肽。

[0007] 本发明的另一目标在于提供编码该新型肽的多核苷酸。

[0008] 本发明的另一目标在于提供细胞穿透肽。

[0009] 本发明的另一目标在于提供作为细胞内活性成分的载体的有用的肽。

[0010] 本发明的另一目标在于提供作为细胞内活性成分的载体的有用的肽,尤其是将活性成分局部地输送至粒线体的有用的肽。

[0011] 本发明的另一目标在于提供用于输送活性成分至粒线体以改善、预防或治疗粒线体相关疾病或病症的有用的肽。

[0012] 本发明的另一目标在于提供活性成分与细胞穿透肽缀合成的缀合物。

- [0013] 本发明的另一目标在于提供包含活性成分与细胞穿透肽的缀合物的组合物。
- [0014] 本发明的另一目标在于提供包含活性成分与细胞穿透肽的缀合物的药物组合物。
- [0015] 本发明的另一目标在于提供包含活性成分与细胞穿透肽的缀合物的功能性化妆组合物。
- [0016] 本发明的另一目标在于提供包含活性成分与细胞穿透肽的缀合物的健康食品组合物。
- [0017] 本发明的另一目标在于提供包含活性成分与细胞穿透肽的缀合物的对比造影剂。

发明内容

- [0018] 根据本发明的一个实施方式的缀合物可为细胞穿透载体肽与活性成分的缀合物,其中所述载体肽为包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中至少一个氨基酸序列的肽、与上述序列具有至少80%同源性的肽、或上述肽的片段,且其中具有至少80%同源性的所述肽和所述片段保留SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中的任一氨基酸序列的细胞穿透能力。
- [0019] 根据本发明中的缀合物的另一实施方式,所述片段可由3个或更多氨基酸构成。
- [0020] 根据本发明中的缀合物的另一实施方式,所述载体肽可由30个或更少氨基酸构成。
- [0021] 根据本发明中的缀合物的另一实施方式,所述载体肽可为由SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列构成的肽或与上述序列具有至少80%同源性的肽。
- [0022] 根据本发明的一个实施方式的对比造影剂可包含上述的任一种缀合物。
- [0023] 根据本发明的一个实施方式的对比造影剂可用于细胞对比造影。
- [0024] 根据本发明的对比造影剂的另一实施方式,所述细胞可为干细胞。
- [0025] 根据本发明的一个实施方式的组合物可包含上述的任一种缀合物。
- [0026] 根据本发明的组合物的另一实施方式,所述活性成分可用于治疗或预防疾病,且所述组合物可为药物组合物。
- [0027] 根据本发明的组合物的另一实施方式,所述活性成分可为用于功能性化妆品的活性成分,且所述组合物可为化妆品组合物。
- [0028] 根据本发明的组合物的另一实施方式,所述活性成分可为用于功能健康食品的活性成分,且所述组合物可为健康食品组合物。
- [0029] 根据本发明方法的一个实施方式为用于输送活性成分至细胞内的方法,其中该方法包括对有需要的对象施用权利要求1至12中任一项所述的缀合物,且其中载体肽为将活性成分输送至细胞内的细胞穿透肽,且其中具有至少80%同源性的所述肽及上述肽的片段保留由SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列构成的肽的细胞穿透能力。
- [0030] 根据本发明的方法的另一实施方式,所述方法可用于将所述活性成分局部地输送至细胞内部的粒线体内。
- [0031] 根据本发明细胞穿透肽的另一实施方式,上述载体肽可以为具有SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任意一个或多个氨基酸序列的肽。
- [0032] 根据本发明的多核苷酸可编码上述细胞穿透肽。
- [0033] 根据本发明的载体可包含上述多核苷酸。
- [0034] 根据本发明的转化细胞可包含上述载体。

[0035] 产业利用性

[0036] 难以运输到细胞内的活性成分可通过使用本发明所公开的肽或肽及活性成分的缀合物而易于运输到细胞内。这意味着可增加活性成分的功效且因此可减少活性成分的剂量。因此,可最小化由于药物施用造成的副作用且可增加治疗的有效性。特别地,当将药物局部地输送至粒线体内时,可改善粒线体相关的疾病或病症,且可增加疾病预防及治疗疾病的有效性。在化妆品的情况中,通过少量活性成分可产生显著效果。通过使肽与对比造影物质缀合,可将该肽用作对比造影物质以监测细胞移植的过程或在细胞治疗中的移植细胞。特别地,该肽可实际上用作用于注入身体内的干细胞的对比造影物质。

附图说明

[0037] 图1描绘通过FACS分析的在FITC与SEQ ID No:1的肽Pep1融合后治疗的HeLa细胞中细胞摄入的细胞数量。对照细胞仅以FITC处理。

[0038] 图2至图29描绘通过FACS分析的在FITC与SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽融合后治疗的HeLa细胞中细胞摄入的细胞数量。对照细胞仅以FITC处理。

[0039] 图30至图51描绘通过FACS分析的在FITC与SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽融合后治疗的Huh7细胞中细胞摄入的细胞数量。对照细胞仅以FITC处理。

[0040] 图52至图69描绘通过FACS分析的在FITC与SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽融合后治疗的人T淋巴球细胞系(Jurkat细胞)中细胞摄入的细胞数量。对照细胞仅以FITC处理。

[0041] 图70描绘通过FACS(流式细胞术)分析的在FITC与SEQ ID No:1的肽Pep1融合后治疗的HeLa细胞的毒性及细胞活性的结果。对照细胞仅以FITC处理。

[0042] 图71至图86描绘通过FACS(流式细胞术)分析的在FITC与SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽融合后治疗的HeLa细胞的毒性及细胞活性的结果。对照细胞仅以FITC处理。

具体实施方式

[0043] 尽管蛋白质、核酸、肽或病毒等具有作为治疗物质的极大可能性潜力,但蛋白质、核酸、肽或病毒等的使用由于无能力不能穿透组织及细胞膜而受限。即使分子大小很小,但该等这种分子由于分子的结构或特性而无法穿透脂质双层。因此,试图经由通过使用电穿孔、热休克等将蛋白质、核酸、肽或病毒运输到细胞内;难以在既不破坏细胞膜又保持上述分子的活性状态的情况下转移彼等所述蛋白质、核酸、肽或病毒。已进行的许多研究显示源自人免疫缺乏病毒(Human Immuno-deficiency Virus;HIV)的反式转录活化因子(Trans-Activating Transcriptional activator;TAT activator)蛋白质可用作细胞穿透肽,该细胞穿透肽可将巨极大的活性物质到运输细胞内。具体地,已进行了关于下列物质的研究,与在细胞内部产生毒性的TAT蛋白质不同,该等该物质可在不产生任何毒性的情况下运输诸如蛋白质、核酸、肽或病毒的极巨大分子到细胞内。因此,本发明是通过本发明人发现源自端粒酶的肽具有作为细胞穿透肽的显著功效而无显著明显毒性而完成的。

[0044] 肽在下表1至下表5中所示的SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:178公开。SEQ ID NO:179是人端粒酶蛋白质的全长序列。SEQ ID NO:1的肽源自端粒酶,由16个氨基酸序列组成。SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:77的肽包括SEQ ID NO:1的肽。SEQ ID NO:78至SEQ ID NO:178的肽

为SEQ ID NO:1的肽的片段。下表1中的“名称”系用于区别肽。在本发明的不同特定实施方式中,在SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:178中超过一个肽包括“合成肽”,即,端粒酶的选定区域的合成肽。在本说明书中,术语“pep”在本文系指具有SEQ ID NO:1的序列、或SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基序列者的肽、包含与上述序列具有超过80%同源性的氨基酸序列的肽或上述肽的片段。

[0045] [表1]

SEQ ID No.	名称	端粒酶中的位置	序列	长度
1.	pep1	[611-626]	EARPALLTSRLRFIPK	16 aa
2.	pep-RIA-1	[610-626]	REARPALLTSRLRFIPK	17 aa
3.	pep-RIA-2	[609-626]	HREARPALLTSRLRFIPK	18 aa
4.	pep-RIA-3	[608-626]	QHREARPALLTSRLRFIPK	19 aa
5.	pep-RIA-4	[607-626]	RQHREARPALLTSRLRFIPK	20 aa
6.	pep-RIA-5	[606-626]	VRQHREARPALLTSRLRFIPK	21 aa
7.	pep-RIA-6	[605-626]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPK	22 aa
8.	pep-RIA-7	[604-626]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	23 aa
9.	pep-RIA-8	[603-626]	EAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	24 aa
10.	pep-RIA-9	[602-626]	SEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	25 aa
11.	pep-RIA-10	[601-626]	LSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	26 aa
12.	pep-RIA-11	[600-626]	ELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	27 aa
13.	pep-RIA-12	[599-626]	RELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	28 aa
14.	pep-RIA-13	[598-626]	LRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	29 aa
15.	pep-RIA-14	[597-626]	QLRELSEAEVRQHREARPALLTSRLRFIPK	30 aa
16.	pep-RIA-15	[610-627]	REARPALLTSRLRFIPKP	18 aa
17.	pep-RIA-16	[609-627]	HREARPALLTSRLRFIPKP	19 aa
18.	pep-RIA-17	[609-628]	HREARPALLTSRLRFIPKPD	20 aa
19.	pep-RIA-18	[610-628]	REARPALLTSRLRFIPKPD	19 aa
20.	pep-RIA-19	[608-627]	QHREARPALLTSRLRFIPKP	20 aa
21.	pep-RIA-20	[608-628]	QHREARPALLTSRLRFIPKPD	21 aa
22.	pep-RIA-21	[608-629]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDG	22 aa
23.	pep-RIA-22	[609-629]	HREARPALLTSRLRFIPKPDG	21 aa
24.	pep-RIA-23	[610-629]	REARPALLTSRLRFIPKPDG	20 aa
25.	pep-RIA-24	[607-627]	RQHREARPALLTSRLRFIPKP	21 aa
26.	pep-RIA-25	[607-628]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPD	22 aa
27.	pep-RIA-26	[607-629]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDG	23 aa
28.	pep-RIA-27	[607-630]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	24 aa
29.	pep-RIA-28	[608-630]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	23 aa
30.	pep-RIA-29	[609-630]	HREARPALLTSRLRFIPKPDGL	22 aa
31.	pep-RIA-30	[610-630]	REARPALLTSRLRFIPKPDGL	21 aa
32.	pep-RIA-31	[606-627]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKP	22 aa
33.	pep-RIA-32	[606-628]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPD	23 aa
34.	pep-RIA-33	[606-629]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDG	24 aa
35.	pep-RIA-34	[606-630]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	25 aa
36.	pep-RIA-35	[606-631]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	26 aa
37.	pep-RIA-36	[607-631]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	25 aa
38.	pep-RIA-37	[608-631]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	24 aa
39.	pep-RIA-38	[609-631]	HREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	23 aa
40.	pep-RIA-39	[610-631]	REARPALLTSRLRFIPKPDGLR	22 aa

[0046] [表2]

[0048]

41.	pep-RIA-40	[605-627]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKP	23aa
42.	pep-RIA-41	[605-628]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPD	24aa
43.	pep-RIA-42	[605-629]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDG	25aa
44.	pep-RIA-43	[605-630]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	26aa
45.	pep-RIA-44	[605-631]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	27aa
46.	pep-RIA-45	[605-632]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	28aa
47.	pep-RIA-46	[606-632]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	27aa
48.	pep-RIA-47	[607-632]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	26aa
49.	pep-RIA-48	[608-632]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	25aa
50.	pep-RIA-49	[609-632]	HREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	24aa
51.	pep-RIA-50	[610-632]	REARPALLTSRLRFIPKPDGLRF	23aa
52.	pep-RIA-51	[604-627]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKP	24aa
53.	pep-RIA-52	[604-628]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPD	25aa
54.	pep-RIA-53	[604-629]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDG	26aa
55.	pep-RIA-54	[604-630]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGL	27aa
56.	pep-RIA-55	[604-631]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLR	28aa
57.	pep-RIA-56	[604-632]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	29aa
58.	pep-RIA-57	[604-633]	AEVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	30aa
59.	pep-RIA-58	[605-633]	EVRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	29aa
60.	pep-RIA-59	[606-633]	VRQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	28aa
61.	pep-RIA-60	[607-633]	RQHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	27aa
62.	pep-RIA-61	[608-633]	QHREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	26aa
63.	pep-RIA-62	[609-633]	HREARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	25aa
64.	pep-RIA-63	[610-633]	REARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	24aa
65.	pep-RIA-64	[611-627]	EARPALLTSRLRFIPKP	17aa
66.	pep-RIA-65	[611-628]	EARPALLTSRLRFIPKPD	18aa
67.	pep-RIA-66	[611-629]	EARPALLTSRLRFIPKPDG	19aa
68.	pep-RIA-68	[611-631]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLR	21aa
69.	pep-RIA-69	[611-632]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRP	22aa
70.	pep-RIA-70	[611-633]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPI	23aa
71.	pep-RIA-71	[611-634]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIV	24aa
72.	pep-RIA-72	[611-635]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVN	25aa
73.	pep-RIA-73	[611-636]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNM	26aa
74.	pep-RIA-74	[611-637]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMD	27aa
75.	pep-RIA-75	[611-638]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDY	28aa
76.	pep-RIA-76	[611-639]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYV	29aa
77.	pep-RIA-77	[611-640]	EARPALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDYVV	30aa
78.	pep-RIA-78	[611-625]	EARPALLTSRLRFIP	15aa
79.	pep-RIA-79	[611-624]	EARPALLTSRLRFI	14aa

80.	pep-RIA-80	[611-623]	EARPALLTSRLRF	13aa
-----	------------	-----------	---------------	------

[0049] [表3]

[0050]

81.	pep-RIA-81	[611-622]	EARPALLTSRLR	12aa
82.	pep-RIA-82	[611-621]	EARPALLTSRL	11aa
83.	pep-RIA-83	[611-620]	EARPALLTSR	10aa
84.	pep-RIA-84	[611-619]	EARPALLTS	9aa
85.	pep-RIA-85	[611-618]	EARPALLT	8aa
86.	pep-RIA-86	[611-617]	EARPALL	7aa
87.	pep-RIA-87	[611-616]	EARPAL	6aa
88.	pep-RIA-88	[611-615]	EARPA	5aa
89.	pep-RIA-89	[611-614]	EARP	4aa
90.	pep-RIA-90	[611-613]	EAR	3aa
91.	pep-RIA-91	[612-626]	ARPALLTSRLRFIPK	15aa
92.	pep-RIA-92	[613-626]	RPALLTSRLRFIPK	14aa
93.	pep-RIA-93	[614-626]	PALLTSRLRFIPK	13aa
94.	pep-RIA-94	[615-626]	ALLTSRLRFIPK	12aa
95.	pep-RIA-95	[616-626]	LLTSRLRFIPK	11aa
96.	pep-RIA-96	[617-626]	LTSRLRFIPK	10aa
97.	pep-RIA-97	[618-626]	TSRLRFIPK	9aa
98.	pep-RIA-98	[619-626]	SRLRFIPK	8aa
99.	pep-RIA-99	[620-626]	RLRFIPK	7aa
100.	pep-RIA-100	[621-626]	LRFIPK	6aa
101.	pep-RIA-101	[622-626]	RFIPK	5aa
102.	pep-RIA-102	[623-626]	FIPK	4aa
103.	pep-RIA-103	[624-626]	IPK	3aa
104.	pep-RIA-104	[612-625]	ARPALLTSRLRFIP	14aa
105.	pep-RIA-105	[613-624]	RPALLTSRLRFI	12aa
106.	pep-RIA-106	[614-623]	PALLTSRLRF	10aa
107.	pep-RIA-107	[615-622]	ALLTSRLR	8aa
108.	pep-RIA-108	[616-621]	LLTSRL	6aa
109.	pep-RIA-109	[617-620]	LTSR	4aa
110.	pep-RIA-110	[612-624]	ARPALLTSRLRFI	13aa
111.	pep-RIA-111	[612-623]	ARPALLTSRLRF	12aa
112.	pep-RIA-112	[612-622]	ARPALLTSRLR	11aa
113.	pep-RIA-113	[612-621]	ARPALLTSRL	10aa
114.	pep-RIA-114	[612-620]	ARPALLTSR	9aa
115.	pep-RIA-115	[612-619]	ARPALLTS	8aa
116.	pep-RIA-116	[612-618]	ARPALLT	7aa
117.	pep-RIA-117	[612-617]	ARFALL	6aa

118.	pep-RIA-118	[612-616]	ARPAL	5aa
119.	pep-RIA-119	[612-615]	ARPA	4aa
120.	pep-RIA-120	[612-614]	ARP	3aa

[0051] [表4]

[0052]

121	pep-RIA-121	[613-625]	RPALLTSRLRFIP	13aa
122	pep-RIA-122	[613-623]	RPALLTSRLRF	11aa
123	pep-RIA-123	[613-622]	RPALLTSRLR	10aa
124	pep-RIA-124	[613-620]	RPALLTSR	8aa
125	pep-RIA-125	[613-619]	RPALLTS	7aa
126	pep-RIA-126	[613-618]	RPALLT	6aa
127	pep-RIA-127	[613-617]	RPALL	5aa
128	pep-RIA-128	[613-616]	RPAL	4aa
129	pep-RIA-129	[613-615]	RPA	3aa
130	pep-RIA-130	[614-625]	PALLTSRLRFIP	12aa
131	pep-RIA-131	[614-624]	PALLTSRLRFI	11aa
132	pep-RIA-132	[614-622]	PALLTSRLR	9aa
133	pep-RIA-133	[614-621]	PALLTSRL	8aa
134	pep-RIA-134	[614-620]	PALLTSR	7aa
135	pep-RIA-135	[614-619]	PALLTS	6aa
136	pep-RIA-136	[614-618]	PALLT	5aa
137	pep-RIA-137	[614-617]	PALL	4aa
138	pep-RIA-138	[614-616]	PAL	3aa
139	pep-RIA-139	[615-625]	ALLTSRLRFIP	11aa
140	pep-RIA-140	[615-623]	ALLTSRLRF	9aa
141	pep-RIA-141	[615-621]	ALLTSRL	7aa
142	pep-RIA-142	[615-620]	ALLTSR	6aa
143	pep-RIA-143	[615-619]	ALLTS	5aa
144	pep-RIA-144	[615-618]	ALLT	4aa
145	pep-RIA-145	[615-617]	ALL	3aa
146	pep-RIA-146	[616-625]	LLTSRLRFIP	10aa
147	pep-RIA-147	[616-624]	LLTSRLRFI	9aa
148	pep-RIA-149	[616-622]	LLTSRLR	7aa
149	pep-RIA-150	[616-620]	LLTSR	5aa
150	pep-RIA-151	[616-619]	LLTS	4aa
151	pep-RIA-152	[616-618]	LLT	3aa
152	pep-RIA-153	[617-625]	LTSRLRFIP	9aa
153	pep-RIA-154	[617-624]	LTSRLRFI	8aa
154	pep-RIA-155	[617-623]	LTSRLRF	7aa
155	pep-RIA-156	[617-622]	LTSRLR	6aa

156	pep-RIA-157	[617-621]	LTSRL	5aa
157	pep-RIA-158	[617-619]	LTS	3aa
158	pep-RIA-159	[618-625]	TSRLRFIP	8aa
159	pep-RIA-160	[618-624]	TSRLRFI	7aa
160	pep-RIA-161	[618-623]	TSRLRF	6aa

[0053] [表5]

161.	pep-RIA-162	[618-622]	TSRLR	5 aa
162.	pep-RIA-163	[618-621]	TSRL	4 aa
163.	pep-RIA-164	[618-620]	TSR	3 aa
164.	pep-RIA-165	[619-625]	SRLRFIP	7 aa
165.	pep-RIA-166	[619-624]	SRLRFI	6 aa
166.	pep-RIA-167	[619-623]	SRLRF	5 aa
167.	pep-RIA-168	[619-622]	SRLR	4 aa
168.	pep-RIA-169	[619-621]	SRL	3 aa
169.	pep-RIA-170	[620-625]	RLRFIP	6 aa
170.	pep-RIA-171	[620-624]	RLRFI	5 aa
171.	pep-RIA-172	[620-623]	RLRF	4 aa
172.	pep-RIA-173	[620-622]	RLR	3 aa
173.	pep-RIA-174	[621-625]	LRFIP	5 aa
174.	pep-RIA-175	[621-624]	LRFI	4 aa
175.	pep-RIA-176	[621-623]	LRF	3 aa
176.	pep-RIA-177	[622-625]	RFIP	4 aa
177.	pep-RIA-178	[622-624]	RFI	3 aa
178.	pep-RIA-179	[623-625]	FIP	3 aa

[0054]

179.	端粒酶	[1-1132]	MPRAPRCRAVRSLLRSHYREVLPATFVRR LGPQGWRLVQRGDPAAFRALVAQCLVCVPWDA RPPPAAPSFQRQVSCLELVARVLQRLCERGA NVLAFGFALLDGARGGPEAFTTSVRSYLPNT VTDALRSGAWGLLLRRVGDVLLVHLLARCAL FVLVAPSCAYQVCGPPLYQLGAATQARPPPHA SGPRRRLGCERAWNHSVREAGVPLGLPAPGAR RRGGSASRSLPLPKRPRRGAPEPERTPVGQG SWAHPGRTRGSDRGFCVVSPPARPAEEATSLE GALSGTRHSHPSVGRQHAGPPSTSRPPRPWD TPCPPVYAETKHFLYSSGDKEQLRPSFLLSSL RPSLTGARRLVETIFLGSRPWMPGTPRRLPRL PQRYWQMRPLFLELLGNHAQCPYGVLLKTHCP LRAAVTPAAGVCAREKPGQSVAAPEEEDTDP RLVQLLRQHSSPWQVYGFVRACLRRLVPPGLW GSRHNERRFLRNTKKFI SLGKHAKLSLQELTW KMSVRDCAWLRSPGVGCVPAAEHRLREEILA KFLHWLMSVYVVELLRSFFYVTETTFQKNRLF FYRKSVWSKLQSIGIRQHLKRVQLRELSAEV RQHREARALLTSRLRFIPKPDGLRPIVNMDY VVGARTFRREKRAERLTSRVKALFVSNYERA RRPGLLGASVGLDDIHRARWTFVLRVRAQDP PPELYFVKVDVTGAYDTIPQDRLTEVIASIIK PQNTYCVRRYAVVQKAAHGHVRKAFKSHVSTL TDLQPYMRQFVAHLQETSPLRDAAVIEQSSSL NEASSGLFDVFLRFMCHHAVRIRGKSYVQCQG IPQGSILSTLLCSLCYGD MENKLFAGIRRDGL LLRLVDDFLLVTPHLTHAKTFLRTLVRGVPEY	1132 aa
------	-----	----------	--	---------

[0055] 在本发明的一个实施方式中,一种多核苷酸编码以下的肽:包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中至少一个氨基酸序列的肽,与上述序列具有至少80%同源性的肽或作为

上述肽的片段的肽。如上所述的多核苷酸能够使得所述肽大量地产生。举例而言,培养包括编码肽的多核苷酸的载体使得肽大量产生。

[0056] 本文公开的肽可包括包含同源性超过80%、超过85%、超过90%、超过95%、超过96%、超过97%、超过98%、超过99%的氨基酸序列的肽。此外,本发明中所公开的肽可包括:包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列的肽或该肽的片段,及具有超过1个转化(transformed)氨基酸、超过2个转化氨基酸、超过3个转化氨基酸、超过4个转化氨基酸、超过5个转化氨基酸、超过6个转化氨基酸或超过7个转化氨基酸的肽。

[0057] 在本发明的一个实施方式中,氨基酸序列中的改变属于肽的物理及化学特性的变化。举例而言,氨基酸转化可经执行而用于改善肽的热稳定性、改变底物特异性及改变最佳pH值。

[0058] 术语“氨基酸”在本文不仅包括经天然引入到肽中的22种标准氨基酸,还包括D-异构体及转化氨基酸。因此,在本发明的特定实施方式中,本文的肽包括具有D-氨基酸的肽。在另一方面,肽可包括非标准氨基酸,诸如已经翻译后修饰的那些氨基酸。翻译后修饰的实例包括磷酸化、糖基化、酰化(包括乙酰化、豆蔻酰化、棕榈酰化)、烷化、羧化、羟化、糖化、生物素化、泛素化、化学性质的转化(例如, β -移除脱酰亚胺、脱酰胺)及结构转化(例如,形成双硫键)。同样,包括氨基酸的改变,氨基酸由于在为形成肽缀合物而与交联剂组合过程中发生化学反应而发生改变。

[0059] 本文公开的肽可为已经识别且从天然源分离出的野生型肽。在另一方面,当与SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列的肽片段相比时,本文公开的肽可为人工突变株突变体,该人工突变株包含一个或多个经取代、删除缺失及/或嵌入添加的一或多个氨基酸。在野生型多肽中变化(不仅在人工突变株中)的氨基酸变化包含不显著影响活性蛋白质折迭折叠及/或活性的氨基酸的保守取代。保守取代的实例属于由碱性氨基酸(精氨酸、赖氨酸及组氨酸)、酸性氨基酸(谷氨酸及天冬氨酸)、极性氨基酸(谷酰胺及天冬酰胺)、疏水性氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸及甲硫氨酸)、芳香族氨基酸(苯丙氨酸、色氨酸及酪氨酸)及小型氨基酸(甘氨酸、丙氨酸、丝氨酸及苏氨酸)组成的组。通常不改变特定活性的氨基酸取代在本技术领域已知。最常发生的变化为丙氨酸/丝氨酸、缬氨酸/异亮氨酸、天冬氨酸/谷氨酸、苏氨酸/丝氨酸、丙氨酸/甘氨酸、丙氨酸/苏氨酸、丝氨酸/天冬酰胺、丙氨酸/缬氨酸、丝氨酸/甘氨酸、酪氨酸/苯丙氨酸、丙氨酸/脯氨酸、赖氨酸/精氨酸、天冬氨酸/天冬酰胺、亮氨酸/异亮氨酸、亮氨酸/缬氨酸、丙氨酸/谷氨酸、天冬氨酸/甘氨酸,及相反的变化。保守取代的另一实例显示在下表6中。

[0060] [表6]

原始氨基酸	残基取代的实例	优选的残基取代
丙氨酸(A)	缬氨酸; 亮氨酸; 异亮氨酸	缬氨酸
精氨酸(R)	赖氨酸; 谷酰胺; 天冬酰胺	赖氨酸
天冬酰胺(N)	谷酰胺; 组氨酸; 天冬氨酸; 赖氨酸; 精氨酸	谷酰胺
天冬氨酸(D)	谷氨酸; 天冬酰胺	谷氨酸
半胱氨酸(C)	丝氨酸; 丙氨酸	丝氨酸
谷酰胺(Q)	天冬酰胺; 谷氨酸	天冬酰胺
谷氨酸(E)	天冬氨酸; 谷酰胺	天冬氨酸
甘氨酸(G)	丙氨酸	丙氨酸
组氨酸(H)	天冬酰胺; 谷酰胺; 赖氨酸; 精氨酸	精氨酸
异亮氨酸(I)	亮氨酸; 缬氨酸; 蛋氨酸; 丙氨酸; 苯丙氨酸; 正亮氨酸	亮氨酸
亮氨酸(L)	正亮氨酸; 异亮氨酸; 缬氨酸; 蛋氨酸; 丙氨酸; 苯丙氨酸	异亮氨酸
赖氨酸(K)	精氨酸; 谷酰胺; 天冬酰胺	精氨酸
蛋氨酸(M)	亮氨酸; 苯丙氨酸; 异亮氨酸	亮氨酸
苯丙氨酸(F)	亮氨酸; 缬氨酸; 异亮氨酸; 丙氨酸; 酪氨酸	酪氨酸
脯氨酸(P)	丙氨酸	丙氨酸
丝氨酸(S)	苏氨酸	苏氨酸
苏氨酸(T)	丝氨酸	丝氨酸
色氨酸(W)	酪氨酸; 苯丙氨酸	酪氨酸
酪氨酸(Y)	色氨酸; 苯丙氨酸; 苏氨酸; 丝氨酸	苯丙氨酸
缬氨酸(V)	异亮氨酸; 亮氨酸; 蛋氨酸; 苯丙氨酸; 丙氨酸; 正亮氨酸	亮氨酸

[0061]

[0062] 肽的生物学性质的实质转化通过选择下列功效方面的显著不同的置换而执行：
(a) 保持置换区域中的多肽主链结构的功效，诸如片状或三维螺旋结构，(b) 保持靶区域中分子的电荷或疏水性的功效，或 (c) 保持侧链的整体的功效。自然残基根据一般侧链性质划分成如下组：

[0063] (1) 疏水性：正亮氨酸、甲硫氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸；

[0064] (2) 中性亲水性：半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸；

[0065] (3) 酸性：天冬氨酸、谷氨酸；

[0066] (4) 碱性：天冬酰胺、谷氨酰胺、组氨酸、赖氨酸、精氨酸；

[0067] (5) 影响链取向(chain orientation)的残基：甘氨酸、脯氨酸；和

[0068] (6) 芳香性：色氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸。

[0069] 非保守置换可通过将上述种类的成员更换为不同种类的成员而进行。与保持肽的适当三维结构无关的任何半胱氨酸残基可通常经置换为丝氨酸，因此增加分子的氧化稳定性且防止不适当交联。反之，稳定性的改善可通过给肽添加一个或多个半胱氨酸键而实

现。

[0070] 肽的氨基酸变体的经改变类型为已改变抗体糖基化方式的那些氨基酸。术语“改变”在本文是指删除在肽中发现的至少一个糖残基和/或添加在肽内不存在的至少一个糖基化残基。

[0071] 肽中的糖基化作用通常经N连接或O连接。术语“N-连接”在本文是指将糖残基附着至天冬酰胺残基的侧链。作为三肽序列,天冬酰胺-X-丝氨酸和天冬酰胺-X-苏氨酸(其中X为除脯氨酸的外的任何氨基酸)为用于将糖残基酶法附着至天冬酰胺的侧链的识别序列。因此,在多肽中存在该三肽序列中的一种的情况下,创建可能的糖基化作用位点。“O-连接糖基化作用”意味着将糖N-乙酰半乳糖、半乳糖或木糖中的一种附着至羟基氨基酸。羟基氨基酸大部分通常为丝氨酸或苏氨酸,但也可使用5-羟基脯氨酸或5-羟基赖氨酸。

[0072] 对肽添加糖基化作用位点通过改变氨基酸序列为含有上述三肽序列(用于N连接的糖基化作用位点)而便利地执行。该改变可通过给第一抗体序列添加至少一个丝氨酸或苏氨酸残基或通过以那些残基(用于O连接的糖基化作用位点)置换而进行。

[0073] 在本发明的一个实施方式中,提供包含肽的细胞穿透肽,其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,该肽具有与上述序列超过80%同源性的氨基酸序列,或肽为上述肽的片段。

[0074] 在本发明的一个实施方式中,提供药物组合物,该药物组合物包含肽作为运送一个以上活性成分的药物递送系统,其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,该肽具有与上述序列超过80%的同源性,或该肽为上述肽的片段。

[0075] 包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列的肽、上述肽的片段或与上述序列具有超过80%同源性的肽是安全的且具有作为细胞穿透肽的显著功效。因此,肽可与药物缀合以在细胞内部运送药物。

[0076] 在本发明的一个实施方式中,提供肽与待运送的活性成分的缀合物,其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,该肽为上述肽的片段或该肽与上述肽具有超过80%的同源性。在本发明的一个实施方式中,活性成分可为选自以下物质中的至少一种:蛋白质、核酸、肽、脂质、糖脂、矿物质、糖、对比造影物质、药物和化合物。在本发明的一个实施方式中,活性成分可为肽。在本发明的一个实施方式中,活性成分可为细胞因子、抗体、抗体片段、治疗性酶、可溶性受体或配体。

[0077] 本文揭示的细胞穿透肽意指可自体外和/或体内运送货物(cargo)至细胞内部的肽。本文揭示的「货物」包含可通过与细胞穿透肽的缀合作用在细胞内部运送的所有物质,例如,想要增加细胞穿透功效的所有物质,具体而言,药物、化妆品或健康食品的活性成分,更具体而言,无法通过一般途径在细胞内部运送的物质,更具体而言,糖、纳米颗粒、生物制剂、病毒、对比造影物质或其它化合物,该其它化合物可例如具有蛋白质、核酸、肽、矿物质、葡萄糖,但不限于那些物质。本文揭示的“药物”为宽泛概念,包括待运送用于缓和、预防、治疗或诊断疾病、创伤或特定症状的物质。

[0078] 本文揭示的“载体肽”为可通过与活性成分的缀合作用运送活性成分至靶位点的肽。

[0079] 在本发明的一个实施方式中,作为货物的蛋白质或肽包含以下的一或更多者:激素、激素类似物、酶、酶抑制剂、信号转移蛋白质(或肽)、抗体和疫苗,但不限于那些物质。在

本发明的一个实施方式中,核酸为以下分子:可为自发或人工的、单链或双链的DNA分子或RNA分子。核酸分子可为相同类型(例如,具有相同的核苷酸序列)的一或多个核酸或不同类型的核酸。核酸分子包含以下的一或多个者:DNA、互补DNA(cDNA)、诱饵DNA(decoy DNA)、RNA、小干扰RNA(siRNA)、微小RNA(miRNA)、小发夹式RNA(shRNA)、小时序RNA(stRNA)、小核仁RNA(snoRNA)、小胞核RNA(snRNA)、戊糖核酸(pentose nucleic acid;PNA)、反义寡聚物、质粒和其它修饰核酸,但不限于那些物质。在本发明的一个实施方式中,病毒包含全病毒或包括病毒的核酸的病毒核心。在本发明的一个实施方式中,化学物质为包含天然或合成物质的宽泛指示,该天然或合成物质可充当药物。

[0080] 其中特定DNA表达在DNA表达的过程中通过双链RNA(double stranded RNA; dsRNA)控制的现象被称为RNA干扰;RNAi。因为该现象于1998年在C线虫中首先发现,据发现,该现象在植物、果蝇和哺乳动物中是常见的(Fire等人,《自然》,391:806-811,1998年;Novina&Sharp,《自然》,430:161-164,2004年)。

[0081] RNA干扰通过具有19-25bps的dsRNA调控,该dsRNA进入细胞、接着与RNA诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex;RISC)结合。dsRNA至互补信使RNA(messenger RNA;mRNA)序列的反义链的结合通过在RISC复合体内发现的核酸内切酶触发目标信使RNA的降解(Rana,T.M.,Nat.Rev.Mol.Cell Biol.,8:23-36,2007年;Tomari,Y.和Zamore,P.D.,Genes Dev.,19:517-529,2005年)。换言之,小干扰RNA通过抑制特定蛋白质的产生且因此干扰DNA表达而包括在RNA干扰中。由19至23个核苷酸组成的小干扰RNA根据信使RNA对于形成双链RNA的特定mRNA的互补顺序形成碱基对。随后,在信使RNA自细胞移除的同时特别分解双链RNA。小干扰RNA已作为用于基因治疗的物质而受到关注,因为小干扰RNA在近代动物研究中显示了对抑制特定DNA的表达的显著的效应。在过去20年里已研究了具有DNA的较高活化和精确选择的小干扰RNA,且期望替换目前正用作治疗物的反义寡核苷酸。因此,许多药物公司现在正开发基于小干扰RNA的治疗物。与现有反义寡核苷酸相比,小干扰RNA系熟知为以少10倍的数量抑制基因表达且仅以基因的显著选择性抑制目标基因。小干扰RNA技术,特别对于治疗目的,具有显著益处,因为小干扰RNA技术与其它药物相比可容易设计且具有诸如高目标选择性和抑制特定基因表达的特性。同样,因为通过RNA干扰抑制基因表达利用体内天然存在的机制,故毒性很低。然而,小干扰RNA具有无法将该小干扰RNA轻易运送至细胞内的缺点,因为小干扰RNA由于小干扰RNA是阴离子而无法穿透细胞膜且由于体内低稳定性的原因容易在短时间周期内被分解。小干扰RNA的此缺点可通过与本文揭示的载体肽缀合来解决。

[0082] 在本发明的一个实施方式中,活性成分(货物)的功效为癌细胞、免疫细胞或成纤维细胞。具体而言,上述癌细胞包含选自由以下细胞组成的组的任一种癌细胞:肝癌细胞、乳癌细胞和白血病细胞;上述免疫细胞包含选自由以下细胞组成的组的任一种免疫细胞:T淋巴细胞、B细胞和单核细胞。

[0083] 在本发明的一个实施方式中,上述活性成分将在细胞质中定位,且载体肽将上述活性成分局部地运送至细胞质。

[0084] 在本发明的一个实施方式中,上述活性成分将在线粒体中定位,且载体肽将上述活性成分局部地运送至线粒体。

[0085] 在本发明的一个实施方式中,通过细胞穿透肽在细胞内部运送的药物可包含一个

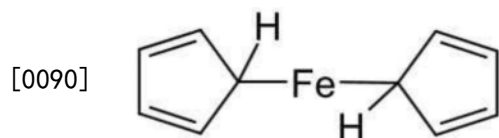
或更多个药物运送载体,诸如脂质粒、胶束、纳米颗粒、磁性颗粒或量子点。

[0086] 本文揭示的术语“对比造影物质”为宽泛指示,该宽泛指示包含用来在医学影像中对比躯体内的结构或流体的所有物质。适当对比造影物质包含不透射线对比造影剂、顺磁对比造影剂、超顺磁对比造影剂、计算机断层扫描(computed tomography;CT)和其它对比造影物质,但不限于那些物质。举例而言,不透射线对比造影剂(用于X射线影像)将包含无机碘化合物和有机碘化合物(例如,泛影酸盐(diatrizoate))、不透射线金属和该不透射线金属的盐(例如,银、金、铂等)和其它不透射线化合物(例如,钙盐、诸如硫酸钡的钡盐、钽和氧化钽)。适当的顺磁对比造影物质(用于MR影像)包含钆二乙三胺五乙酸(gadolinium diethylene triaminepentaacetic acid;Gd-DTPA)和Gd-DTPA的衍生物、其它钆、锰、铁、镉、铜、镉、铊、铬、镍和钴复合体,例如,1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid;DOTA)、乙二胺四乙酸(ethylenediaminetetraacetic acid;EDTA)、1,4,7,10-四氮杂环十二烷-N,N',N''-三乙酸(1,4,7,10-tetraazacyclododecan-N,N',N''-triacetic acid;DO3A)、1,4,7-三氮杂环壬烷-N,N',N''-三乙酸(1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-TRIACETIC ACID;NOTA)、1,4,8,10-四氮杂环十四烷-N,N',N'',N'''-四乙酸(1,4,8,10-tetraazacyclotetradecane-N,N',N'',N'''-tetraacetic acid;TETA)、羟基苄基乙二胺二乙酸(hydroxybenzylethylenediamine diacetic acid;HBED)。适当的超顺磁对比造影物质(用于MR影像)包含磁铁矿、超顺磁氧化铁(super-paramagnetic iron oxide;SPIO)、超小超顺磁氧化铁(ultrasmall superparamagnetic iron oxide;USPIO)和单晶氧化铁。其它适当的对比造影物质为碘化、非碘化、离子和非离子的CT对比造影剂、类似旋转标记或诊断上有效制剂的对比造影物质。

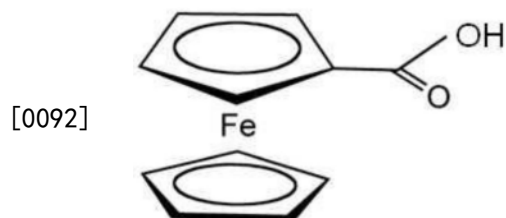
[0087] 对比造影物质的其它实例包含 β -半乳糖苷酶、绿色荧光蛋白、青色荧光蛋白、荧光素酶(但不限于那些物质)和编码在表示于细胞内时可容易检测到的蛋白质的标识基因。可使用各种标记,诸如放射性同位素、flour、酶、酶基质、酶辅因子、酶抑制剂、配体(尤其是半抗原(heptan))。

[0088] 在本发明的一实例中,对比造影物质为下文化学式2的二茂铁羧酸。二茂铁的结构系表示在化学式1中。

[0089] [化学式1]

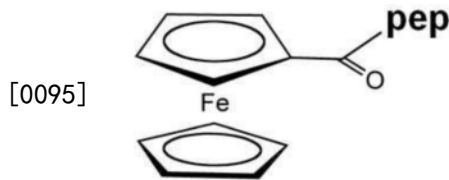


[0091] [化学式2]



[0093] 在本发明的一个实例中,细胞穿透肽与对比造影物质的缀合物为下文化学式3中表示的二茂铁羧基-pep1。

[0094] [化学式3]



[0096] 在本发明的一个实施方式中,肽或组合物可与一个或更多个可检测标记融合。标记可为可在化学反应、物理反应或酶反应中检测到的化合物或在反应中直接或间接地产生信号的化合物。标记和检测随后可根据此技术领域所熟知的方法来执行(例如,Sambrook, J.和Russel, D.W. (2001);和Lottspeich, F.和Zorbas H. (1998) Bioanalytik, Spektrum Akademischer Verlag, 海德堡/柏林, 德国)。标记包含荧光标记、酶标记、显色标记、发光标记、辐射标记、半抗原、生物素、金属复合体、金属和胶体金,但不限于那些标记。该标记的所有形式在此工作领域是众所周知的,该标记的所有形式可自各供货商购得。

[0097] 在本发明的一个实施方式中,货物可与肽直接结合。在本发明的另一个实施方式中,货物可通过诸如共价键或非共价键的各种类型的键与肽结合。例如,在本发明的一个实施方式中,货物可与肽的N端或C端结合。举例而言,货物可通过二硫键或共价键键结至肽。共价键为可将货物键结至N端谷氨酸的 α -胺或C端赖氨酸残基的胺的键。同样,肽和货物可通过非共价键结合,此可使肽或货物可将彼此封装为胶囊形式。

[0098] 在本发明的另一个实施方式中,肽可通过接头与货物结合。举例而言,肽可通过在将诸如联肼尼克酰胺(6-肼基吡啶-3-羧酸)接头(Hynic (6-hydrazinopyridine-3-carboxylic acid) linker)的接头引入N端谷氨酸的 α -胺或C端赖氨酸残基的胺之后将货物结合至接头而与货物结合。

[0099] 在本发明的另一个实施方式中,当货物为DNA或RNA时,将SH基团(硫醇基)引入肽,且将马来酰亚胺基引入DNA或RNA,随后,肽的SH基团和DNA或RNA的马来酰亚胺基结合,因此产生在货物与肽之间的结合。

[0100] 在本发明的另一个实施方式中,当货物为肽或蛋白质时,表达货物的DNA与表达载体肽的DNA结合,且通过表达该DNA结合,可将货物与肽结合为融合蛋白质的形式。通过融合蛋白质结合的特定实例如下:当制造引物用于产生融合蛋白质时,编码载体肽的核苷酸经附着在表达货物的核苷酸前面,且使用限制酶将所获得核苷酸嵌入诸如聚对苯二甲酸乙二醇酯(Polyethylene Terephthalate; pET)载体的载体,且核苷酸系以转化到诸如BL-21 (DE3)的细胞中来表达。此时,融合蛋白质将通过以类似异丙基-1-硫代- β -D-半乳糖吡喃糖苷(isopropyl-1-thio- β -D-galactopyranoside; IPTG)的表达诱导剂处理该融合蛋白质而有效表达。随后,所表达的融合蛋白质系通过His标签净化来净化,且以PBS透析,且经添加至试剂盒以在2000rpm至4000rpm、5至20分钟的此类条件下通过离心分离作用而浓缩。

[0101] 在本发明的一个实施方式中,载体肽与染色物质、荧光物质、特别是异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate; FITC)或绿色荧光蛋白(Green Fluorescent Protein; GFP)结合。在本发明的一个实施方式中, FITC系与在载体肽的N端或C端的赖氨酸的胺基(NH_3^+)结合。在其中赖氨酸不存在于肽的端的肽情况中,肽可通过包括赖氨酸的接头与FITC结合。

[0102] 本文揭示的载体肽可以1:1的摩尔分数与货物结合,但该载体肽也可以不同于1:1的摩尔分数与货物结合,该载体肽为包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列

的肽,或具有与上述肽超过80%同源性的氨基酸序列的肽,或上述肽的片段。举例而言,CPP与货物的摩尔分数可大于2:1,具体而言,大于2:1、大于3:1、大于4:1、大于5:1、大于6:1、大于7:1、大于8:1、大于9:1或大于10:1。此意味着大量载体肽分子可与货物分子结合。大量载体肽分子可经串行或并行结合。“串行结合”意味着载体肽与货物分子将在端氨基酸处结合。“并行结合”意味着载体肽与货物分子将在不同于端氨基酸的位点结合。在另一方面,载体肽与货物的摩尔分数可大于1:2。此意味着载体肽分子可与大量货物分子结合。举例而言,载体肽与货物的摩尔分数可为1:2,具体而言,大于1:2、大于1:3、大于1:4、大于1:5、大于1:6、大于1:7、大于1:8、大于1:9或大于1:10。

[0103] 可轻易发现与异硫氰酸荧光素结合的肽的移动途径。因此,在本发明的一个实施方式中的载体肽将用于细胞成像或检测在细胞内部的药物递送途径。

[0104] 在本发明的一个实施方式中,提供肽作为运送一个以上活性成分的药物递送载体的用途,其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,或该肽为上述肽的片段,或该肽具有与上述肽超过80%同源性的氨基酸序列。用途可指治疗用途或非治疗用途。

[0105] 在本发明的一个实施方式中,提供在将药物递送到受试对象的细胞内部的方法,该方法包含施用包含药物和肽的组合物的步骤;其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,或该肽为上述肽的片段,或该肽具有与上述肽超过80%同源性的氨基酸序列。

[0106] 在本发明的一个实施方式中,提供检测药物递送途径的方法,该方法包含对受试对象应用肽和对比造影物质的步骤;其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,或该肽为上述肽的片段,或该肽具有与上述肽超过80%同源性的氨基酸序列。

[0107] 在本发明的一个实施方式中,提供检测药物递送途径的方法,该方法包含对受试对象应用肽与对比造影物质的缀合物的步骤;其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,或该肽为上述肽的片段,或该肽具有与上述肽超过80%同源性的氨基酸序列。

[0108] 在本发明的一个实施方式中,提供用于将药物递送至受试对象的细胞内的试剂盒,该试剂盒含有组合物和说明书,其中该组合物包含本发明的肽与用于递送的药物的缀合物,其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列或该肽为上述肽的片段,或该肽具有与上述肽超过80%同源性的氨基酸序列,其中该说明书包括以下的至少一种:给药剂量、给药途径、给药频率和组合物的指示。

[0109] 在本发明的一个实施方式中,提供包含活性成分和肽的化妆品或食品组合物;其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,该肽具有与上述序列超过80%同源性的氨基酸序列,或该肽为上述肽的片段。在本发明的另一个实施方式中,提供包含肽与活性成分的缀合物的化妆品或食品组合物;其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,该肽具有与上述序列超过80%同源性的氨基酸序列,或该肽为上述肽的片段。

[0110] 在本发明的一个实施方式中,提供具有将活性成分运送到细胞内部的显著能力的药物、化妆品或食品组合物,该药物、化妆品或食品组合物包含肽与活性成分的缀合物;其中该肽包含SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列,该肽具有与上述序列超过

80%同源性的氨基酸序列,或该肽为上述肽的片段。

[0111] 线粒体,作为真核细胞的能量代谢中的中心胞器,为与人类疾病有关的首先熟知的细胞内胞器(Luft R,Ikkos D,Palmieri G,Ernster L,Afzelius B:A case of severe hypermetabolism of non thyroid origin with a defect in the maintenance of mitochondrial respiratory control:a correlated clinical,biochemical,and morphological study (在保持线粒体呼吸控制中具有缺陷的非甲状腺成因的严重代谢亢进的情况:相关的临床研究、生物化学研究和形态学研究),J Clin Invest 41:1776-804,1962年)。

[0112] 因为线粒体在控制细胞的能量代谢和细胞凋亡中起重要作用,故该线粒体充当各种治疗药物的主要靶。同样,此胞器涉和控制细胞内部的钙浓度,线粒体呼吸链充当在能量产生中重要的电子运送系统,且该线粒体呼吸链导致产生活性氧物种。因此,异常线粒体作用与成人疾病具有密切关系,该成人疾病诸如尿崩症、心肌症、不孕症、失明、肾/肝疾病和中风(Modica-Napolitano KS,Singh KK:四月mitochondri as targets for detection and treatment of cancer.(作为检测和治疗癌症的靶的线粒体。)Expert Rev Mol Med 11:1-19,2002年)。同样,正建议将线粒体遗传突变包括在老化、变性神经元疾病和癌症等的爆发中。

[0113] 根据本发明一个实施方式提供的粒线体靶向输送系统可包含包含上述的任一种缀合物,其中载体肽局部地移动至粒线体内,并且执行将所述活性成分局部细胞内粒线体输送的作用,其中与上述序列具有至少80%同源性的氨基酸序列的肽及片段是保持线粒体靶向递送系统的肽,上述线粒体靶向肽可以是具有SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列的肽。

[0114] 可提供粒线体活性调节组合物,其中该组合物包含本发明的肽和递送用载体肽的缀合物,其中载体肽局部地移动至细胞内粒线体内,并且执行将所述活性成分局部细胞内粒线体输送的作用,其中与上述序列具有至少80%同源性的氨基酸序列的肽及该肽的片段为是保持线粒体靶向递送系统的肽,上述线粒体靶向肽可以是具有SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178中任一氨基酸序列的组合物。

[0115] 本发明一个实施方式的粒线体活性调节组合物,所述组合物作为药物组合物用于治疗与粒线体有关之疾病或病症,预防、抑制疾病进展,或缓解症状;其中所述活性成分用于治疗与粒线体有关之疾病或病症,预防、抑制疾病进展,或缓解症状。

[0116] 本文揭示的“线粒体相关疾病”包含亨汀顿氏疾病、肌萎缩性脊髓侧索硬化、线粒体脑肌肉病变合并乳酸血症和类中风症候群(Mitochondrial Encephalomyopathy with Lactic Acidemia and Stroke-like episodes;MELAS);肌阵挛癫痫合并红色褴褛肌纤维症(Myoclonus,epilepsy,and myopathy with ragged red fibers;MERRF);神经性肌肉松弛、失调症、色素性视网膜炎/母体遗传莱氏症状(Neurogenic muscular weakness, ataxia,retinitis pigmentosa/Maternally inherited leigh syndrome;NARP/MILS);Leber氏视神经病变(Lebers hereditary optic neuropathy;LHON);Kearns-Sayre症候群(Kearns-Sayre Syndrome;KSS);皮尔森骨髓胰腺症(Pearson Marrow-Pancreas Syndrome;PMPS);慢性渐进性眼外肌麻痹(Chronic progressive external ophthalmoplegia;CPEO);瑞氏症候群;阿尔珀斯氏症候群;多个线粒体DNA缺失症候群;线粒

体DNA耗乏症候群;复合体I缺陷;复合体II(琥珀酸脱氢酶(succinate dehydrogenase;SDH))缺陷;复合体III缺陷;细胞色素c氧化酶(COX,复合体IV)缺陷;复合体V缺陷;腺嘌呤核苷酸转运体(Adenine nucleotide translocator;ANT)缺陷;丙酮酸脱氢酶(Pyruvate dehydrogenase;PDH)缺陷;具有乳酸血症的乙基丙二酸酸性尿;具有乳酸血症的3-甲基戊烯二酸酸性尿;体现为在传染期间的衰减的不应性癫痫;体现为在传染期间的衰减的阿斯伯格症候群;体现为在传染期间的衰减的自闭症;注意力不足过动症(Attention deficit hyperactivity disorder;ADHD);体现为在传染期间的衰减的脑性麻痹;体现为在传染期间的衰减的失读症;母系遗传血小板减少症;白血病;MNGIE(线粒体肌病变、周围和自主神经病变、胃肠功能异常和癫痫);MARIAHS症候群(线粒体失调症、复发传染、失语症、低尿酸血症/髓磷脂减少症(hypomyelination)、癫痫发作和二羧酸酸性尿);ND6肌张力不全症;体现为在传染期间的衰减的周期性呕吐症状;具有乳酸血症的3-羟基异丁酸酸性尿;具有乳酸血症的尿崩症;尿苷反应性神经症状(Uridine reactive neural syndrome;URNS);家族双侧纹状体坏死(Familial bilateral striatum necrosis;FBSN);与胺基糖苷有关的听力损失;松弛心肌病;脾淋巴瘤;钨症状;多个线粒体DNA缺失症状;和肾小管酸血症/尿崩症/失调症症状,但不限于那些疾病。

[0117] 在本发明的另一个实施方式中,提供编码上述多肽的核酸分子。例如,核酸分子具有碱基序列GAA GCG CGC CCG GCG CTG CTG ACC AGC CGC CTG CGC TTT ATT CCG AAA。核酸可根据熟习此项技术者所熟知的方法引入寄主细胞内。举例而言,熟知方法可为通过以下方法的转化方法:磷酸钙方法、脂质粒、电穿孔、接触病毒和细胞,或直接微注射至细胞内等。寄主细胞为较高等的真核细胞(例如,哺乳动物细胞),或较低等的真核细胞(诸如酵母细胞),或原核细胞(诸如细菌细胞)。适于转化的原核寄主细胞可为属于以下的物种:例如,大肠杆菌、枯草杆菌、沙门氏菌、假单胞菌、链霉菌和微细菌物种。

[0118] 包括上述核酸分子的载体通常为重组表达载体,且该载体包含赋能寄主细胞转化的复制起点和可选择标记物(例如,用于真核细胞培养的二氢叶酸还原酶,或新霉素的容许度、四环素或氨苄西林在大肠杆菌中的容许度,酵母菌TRP1基因),和用于控制蛋白质涂布序列的转录的启动子。例如,可用表达载体为:熟知细菌质粒,诸如SV40、pcDNA的衍生物;和熟知细菌质粒,诸如colE1、pCR1、pBR322、pMal-C2、pET、pGEX(Smith等人, Gene 67:31-40(1988));质粒,诸如pMB9和pMB9的衍生物RP4;与噬菌体I的大量衍生物相同的噬菌体DNA,诸如NM989;诸如M13和丝状单股噬菌体DNA的噬菌体DNA;酵母质粒,例如,噬菌体DNA或自使用表达抑制序列的修饰质粒与噬菌体DNA的组合诱导的载体。哺乳动物表达载体包含复制起点、适当启动子和增强子。同样,该载体可包含强制核糖体结合位点、聚腺苷酸化位点、剪接供体和受体部分、转录终止序列和5'侧接(planking)非转录序列。哺乳动物表达载体可包含可诱导启动子,例如,含有二氢叶酸还原酶启动子的载体,含有DHFR表达盒或DHFR/甲氨喋呤共扩增载体的任何表达载体,诸如pED(Randal J, kaufman, 1991, Randal J. Kaufman, Current Protocols in Molecular Biology, 16, 12(1991))。或者,可使用以下载体:谷氨酰胺合成酶/甲硫氨酸磺酰亚胺共扩增载体,例如, pEE14(Celltech公司)、人类疱疹病毒第四型(Epstein-Barr-Virus;EBV);或受核抗原(EBNA)控制引导附加型表达的载体,例如, pREP4(Invitrogen公司)、pCEP4(Invitrogen公司)、pMEP4(Invitrogen公司)、pREP8(Invitrogen公司)、pREP9(Invitrogen公司)和pEBVHis(Invitrogen公司)。可选择哺

乳动物表达载体为Rc/CMV (Invitrogen公司) 和pRc/RSV (Invitrogen公司) 等。可用于本发明的牛痘病毒哺乳动物表达载体为pSC11、pMJ601、pTKgptF1S等。

[0119] 将用于本发明的酵母表达载体系统为非融合pYES2载体 (Invitrogen公司)、融合pYESHisA、B、C (Invitrogen公司)、pRS载体等。

[0120] 上述载体可经引入各种细胞, 诸如哺乳动物细胞 (特别是源自人类的细胞) 或细菌、酵母、真菌、昆虫、线虫和植物细胞。适当细胞的实例为: VERO细胞; HELA细胞, 例如ATCC No. CCL2; CHO细胞系, 例如ATCC No. CCL61; COS细胞, 例如COS-7细胞和ATCC No. CRL 1650细胞; W138、BHK、HepG2、3T3, 例如, ATCC No. CRL6361; A549、PC12、K562细胞; 293细胞; Sf9细胞, 例如ATCC No. CRL1711; 和Cv1细胞, 诸如ATCC No. CCL70等。

[0121] 将用于本发明的其它适当细胞为原核寄主细胞菌株, 例如, 属于大肠杆菌 (例如, DH5- α 菌株)、枯草杆菌、沙门氏菌、假单胞菌、链霉菌和葡萄球菌的菌株。

[0122] 在本发明的一个实施方式中, 组合物可含有0.1 μ g/mg至1mg/mg、具体而言1 μ g/mg至0.5mg/mg、更具体而言10 μ g/mg至0.1mg/mg的以下肽: 包含SEQ ID NO: 2至SEQ ID NO: 178中任一氨基酸序列的肽、包含与上述序列具有超过80%同源性的氨基酸序列的肽或上述肽的片段。当所包含的肽在上述范围内时, 组合物的所有安全性和稳定性可经满足且在成本有效性方面为适当的。

[0123] 在本发明的一个实施方式中, 组合物可应用于所有动物, 包括人类、狗、鸡、猪、母牛、羊、天竺鼠和猴。

[0124] 在本发明的一个实施方式中, 药物组合物可在骨髓、硬膜外或皮下手段中通过以下方式给药: 口服、直肠给药、经皮给药、静脉给药、肌肉给药、腹膜内给药。

[0125] 口服给药的形式可为但不限于片剂、药丸、软胶囊或硬胶囊、颗粒、粉末、溶液或乳液。非口服给药的形式可为但不限于注射剂、滴剂、洗剂、软膏、凝胶、乳霜、悬浮液、水乳液、栓剂、贴剂或喷剂。

[0126] 在本发明的一个实施方式中, 若有必要, 药物组合物可含有添加剂, 诸如稀释剂、赋形剂、润滑剂、黏合剂、崩解剂、缓冲剂、分散剂、表面活化剂、着色剂、芳香剂或甜味剂。在本发明的一个实施方式中, 药物组合物可通过此技术领域中的习知工业方法制造。

[0127] 在本发明的一个实施方式中, 医学组合物的活性成分可根据以下方面变化: 病人的年龄、性别、体重、病理和状态、给药途径或开药者的判断。基于该因子的剂量系在熟习此项技术者的水平内决定, 且每日剂量例如可为但不限于, 0.1 μ g/kg/天至1g/kg/天, 具体而言1 μ g/kg/天至10mg/kg/天, 更具体而言10 μ g/kg/天至1mg/kg/天, 更具体而言50 μ g/kg/天至100 μ g/kg/天。在本发明的一个实施方式中, 药物组合物可每天一至三次给药, 但不限于此。

[0128] 在本发明的一个实施方式中, 化妆品组合物可以适于局部应用的所有形式来提供。举例而言, 该形式可经提供为溶液、通过油相在水中的分散获得的水乳液、通过水在油相中的分散获得的水乳液、悬浮液、固体、凝胶、粉末、糊剂、泡沫、或气溶胶。该形式可通过此技术领域中的习知工业方法制造。

[0129] 在本发明的一个实施方式中, 化妆品组合物可在不会损害主效应的水平内包括可合意地增加主效应的其它成分。在本发明的一个实施方式中, 化妆品组合物可另外包括润肤膏、软化剂、表面活化剂、UV吸收剂、防腐剂、杀真菌剂、抗氧化剂、pH值调节剂、有机颜料

或无机颜料、芳香剂、冷却剂或止汗剂。上述成分的配方比可在不会损害本发明的目的和效应的水平内通过熟习此项技术者决定,且基于化妆品组合物的总重量的配方比可为以重量计0.01%至5%,具体而言以重量计0.01%至3%。

[0130] 在本发明的一个实施方式中,食品组合物不局限于形式,但例如可为颗粒、粉末、液体和固体形式。每一形式可以由熟习此项技术者适当选取的常用于工业中的成分(除活性成分外)组成,且可增加具有其它成分的效应。

[0131] 对于上述活性成分的剂量的判定系在熟习此项技术者的水平内,且每日剂量例如可为1 μ g/kg/天至10mg/kg/天,更具体而言10 μ g/kg/天至1mg/kg/天,更具体而言50 μ g/kg/天至100 μ g/kg/天,但不限于该数量且可根据年龄、健康状态、并发病和其它各种因子而变化。

[0132] 本文使用的术语意欲用来描述实施例,而非用来限制本发明。前文数不胜数的术语不欲限制量而是表示可存在一个以上的所使用术语的事物。术语“包括”、“具有”、“组成”和“包含”应为开放解释(亦即,“包括但不限于”)。

[0133] 使用数量的范围的提及代替说明范围内的分开数量,因此除非明确说明,否则每一数量可读作本文整合的分开数量。所有范围的端值系包括在范围内且可经独立组合。

[0134] 除非另作说明或明显同上下文相矛盾,否则本文提及的所有方法可按适当顺序执行。除非包括在申请专利范围内,否则任一个实施方式和所有实施例或示例性语言(例如,使用“类似……”的语言)的使用系用来更清楚描述本发明,而不是限制本发明的范畴。在申请专利范围外的本文任何语言将不会解释为本发明的必需品。除非另外界定,否则本文使用的技术术语和科学术语具有本发明所归属的熟习此项技术者通常理解的意义。

[0135] 本发明的优选实施例系为执行本发明的发明者所熟知的最佳模式。对熟习此项技术者而言,先于优选实施例中的变化而读取声明之后,可为清楚的。本发明者希望熟习此项技术者可充分使用该变化且以不同于本文所列举的其它方式进行本发明。因此,如由专利法所允许,本发明包括在随附申请专利范围中所说明的关键点的等效物和等效物的变化。另外,在上述组分的任何组合内的所有可能变化系包括在本发明中,除非另外明确说明或同上下文相矛盾。尽管本发明系通过示例性实施例描述和表示,但熟习此项技术者将很好理解,在不脱离本发明的精神和范围的情况下可存在通过下文申请专利范围所界定的形式和细节上的各种变化。

[0136] 实施例1:肽的合成

[0137] 具有SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽系根据固相肽合成的现有方法来合成。详细地,肽通过使用ASP48S(Pepttron公司,大田市,大韩民国)利用Fmoc固相肽合成(solid phase peptide synthesis;SPPS)自C端偶联每一氨基酸而合成。那些肽经使用如下,那些肽在C端的第一氨基酸附着至树脂:

[0138] NH₂-赖氨酸(Boc)-2-氯-三苯甲基树脂

[0139] NH₂-丙氨酸-2-氯-三苯甲基树脂

[0140] NH₂-精氨酸(Pbf)-2-氯-三苯甲基树脂

[0141] 合成肽的所有氨基酸材料在N端通过Fmoc保护,且氨基酸残基通过可溶于酸的Trt、Boc、t-Bu(t-丁酯)、Pbf(2,2,4,6,7-五甲基二氢苯并呋喃-5-磺酰基)保护。诸如:

[0142] Fmoc-丙氨酸-OH、Fmoc-精氨酸(Pbf)-OH、Fmoc-谷氨酸(OtBu)-OH、Fmoc-脯氨酸-

OH、Fmoc-亮氨酸-OH、Fmoc-异亮氨酸-OH、Fmoc-苯丙氨酸-OH、Fmoc-丝氨酸(tBu)-OH、Fmoc-苏氨酸(tBu)-OH、Fmoc-赖氨酸(Boc)-OH、Fmoc-谷氨酰胺(Trt)-OH、Fmoc-色氨酸(Boc)-OH、Fmoc-蛋氨酸-OH、Fmoc-天冬酰胺(Trt)-OH、Fmoc-酪氨酸(tBu)-OH、Fmoc-氨基己酸-OH、Trt-巯乙酸。

[0143] HBTU[2-(1H-苯并三唑-1-基)-1,1,3,3-六氟磷酸四甲铵]/HOBt[N-羟基苯并三唑]/NMM[4-甲基吗啡啉]用作偶联试剂。使用含20%哌啶的二甲基甲酰胺(dimethyl formamide;DMF)移除Fmoc。为自残基移除保护或使所合成肽与树脂分离,使用分裂混合物[三氟乙酸(trifluoroacetic acid;TFA)/三异丙基硅烷(triisopropylsilane;TIS)/乙二硫醇(ethanedithiol;EDT)/H₂O=92.5/2.5/2.5/2.5]。

[0144] 肽通过使用固相分子框架通过以如下顺序过程添加每一氨基酸而合成:氨基酸保护、偶联反应、洗涤和去保护。在自树脂切断所合成肽之后,所合成肽通过高效液相层析法(High Performance Liquid Chromatography;HPLC)净化且通过质谱测定法(mass spectrometry;MS)验证合成且随后冷冻干燥。

[0145] 特定肽合成过程以pep1(EARPALLTSRLRFIPK)的实施例描述如下。

[0146] 1) 偶联

[0147] 将以NH₂-赖氨酸(Boc)-2-氯-三苯甲基树脂保护的氨基酸(8当量)熔融在偶联剂HBTU(8当量)/HOBt(8当量)/NMM(16当量)中,且在添加DMF之后,将反应混合物在室温下培育达2小时,随后以DMF、MeOH和DMF顺序洗涤。

[0148] 2) Fmoc去保护

[0149] 在DMF中添加20%哌啶之后,将反应混合物在室温下培育达5分钟2次,随后以DMF、MeOH和DMF顺序洗涤。

[0150] 3) 通过反复重复反应1和反应2构成肽的碱性框架。

[0151] 4) 切割:添加分裂混合物至完全合成的肽且使肽与树脂分离。

[0152] 5) 将预冷却乙醚添加至混合物内,且随后使反应混合物离心分离以沉淀出肽。

[0153] 6) 在通过Prep-HPLC净化之后,通过LC/MS检查分子重量且冷冻干燥以获得粉末形式的肽。

[0154] 实施例2: pep(CPP)-FITC缀合物的制备

[0155] (1) FITC-CPP缀合物的制备

[0156] 如下制造与FITC结合的具有SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽的缀合物,例如,pep1与FITC的缀合物,换言之,FITC-接头-pep1经制造如下。

[0157] 根据实施例1中描述的制造方法获得的肽的碱性框架NH₂-接头-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Boc)-2-氯-三苯甲基树脂与FITC反应。具体而言,将荧光素-5-异硫氰酸酯(FITC)(8当量)与N,N-二异丙基乙胺(N,N-Diisopropylethylamine;DIPEA)(16当量)熔融在DMF中。添加DMF溶液且在室温下反应达2小时,随后以DMF、MeOH和DMF顺序洗涤。因此,获得FITC-接头-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Boc)-2-氯-三苯甲基树脂。本文的接头为6-氨基己酸(Ahx)。TFA/TIS/H₂O=95/2.5/2.5经添加至在树脂上组成的肽,且缀合物系与树脂分离。预冷却乙醚经添加至所获得混合物,且使用离心分离作用来沉淀肽缀合物。在通过Prep-HPLC净化之后,纯度系以分析HPLC确定且分子重量系通过LC/MS决定。如上所述合成

的肽系通过由LC/MS确定分子重量而验证为FITC-pep1。随后将缀合物冷冻干燥。按照对 pep1 所述相同的方式,还制备了SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽与FITC融合的缀合物。

[0158] (2) CPP-FITC缀合物的制备

[0159] 根据实施例2 1. (1) 中描述的制造方法产生肽的碱性框架(NH₂-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Dde)-2-氯-三苯甲基树脂)。为选择性引入FITC至肽的C端,肽的N端经保护不受Boc影响。随后,将二碳酸二叔丁酯(30当量)与DIPEA(30当量)熔融在DMF中。添加DMF溶液至肽且在室温下培育达2小时,且肽以DMF、MeOH和DMF顺序洗涤。因此,获得Boc-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Dde)-2-氯-三苯甲基树脂。使用含2%胍的DMF来移除Dde以添加FITC至赖氨酸的C端,该Dde为C端残基赖氨酸的保护基。随后,将FITC(8当量)和DIPEA(16当量)熔融在DMF中,该DMF经添加至肽反应混合物,且混合物在室温下经培育达2小时,随后以DMF、MeOH、DMF顺序洗涤。因此,获得Boc-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(FITC)-2-氯-三苯甲基树脂。TFA/TIS/H₂O=95/2.5/2.5经添加以使肽与树脂分离。预冷却乙醚经添加至混合物,且使用离心分离作用来沉淀肽。在通过Prep-HPLC净化之后,纯度是以分析HPLC确定且分子重量系以LC/MS确定。所获得物质通过LC/MS证实分子重量而验证为pep1-FITC。随后缀合物经冷冻干燥。按照与上述相同的方式,还制备了SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽-FITC缀合物。

[0160] 实施例3:二茂铁羧基-CPP缀合物的穿透性

[0161] 将以NH₂-赖氨酸(Boc)-2-氯-三苯甲基树脂保护的氨基酸(8当量)和偶联剂HBTU(8当量)/HoBt(8当量)/NMM(16当量)熔融在DMF中用于偶联。添加DMF溶液且室温下反应达2小时,随后以彼顺序的DMF、MeOH、DMF洗涤。随后,含20%哌啶的DMF经添加用于Fmoc去保护且在室温下反应达5分钟2次,随后以彼顺序的DMF、MeOH、DMF洗涤。通过重复上述反应,构成肽的碱性框架(NH₂-E(OtBu)-A-R(Pbf)-P-A-L-L-T(tBu)-S(tBu)-R(Pbf)L-R(Pbf)-F-I-P-K(Dde)-2-氯-三苯甲基树脂)。添加含2%胍的DMF以移除Dde,该Dde为C端赖氨酸残基的保护基。随后,将二茂铁羧酸(Sigma Aldrich cat.#_46264,16当量)和偶联剂HBTU(16当量)/HoBt(16当量)/NMM(32当量)熔融在DMF中。添加DMF溶液且室温下反应达2小时,随后以彼顺序的DMF、MeOH和DMF洗涤。TFA/TIS/H₂O=95/2.5/2.5经添加至上述所合成肽树脂以使肽与树脂分离。冷却乙醚经添加至所获得混合物,且使用离心分离作用来沉淀所聚集的肽。沉淀物系通过HPLC净化且以MS确定。随后,将肽冷冻干燥。

[0162] 实施例4:pep-FITC缀合物的细胞穿透性实验

[0163] (1) 在HeLa细胞系中的细胞穿透性实验

[0164] 细胞培养

[0165] HeLa细胞系人宫颈腺癌细胞,购自ATCC。将细胞在37℃下在5%CO₂培育箱中在含有10%胎牛血清(Invitrogen,美国)、厄尔氏盐、非必要氨基酸、丙酮酸钠、100μg/mL青霉素及10单位/mL链霉素的最低必需培养基(Minimum Essential Medium;MEM)中培养。

[0166] 流式细胞术和对细胞穿透的共聚焦显微镜分析

[0167] 执行流式细胞术和共聚焦显微镜分析,以比较以SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178的肽、pep(CPP)和对照处理的细胞的细胞摄入的程度。

[0168] 将细胞系在6孔培养板中分裂且在含有10%胎牛血清(Invitrogen公司,美国)、

100 μ g/ml青霉素、100单位/ml链霉素的培养基中在37 $^{\circ}$ C下在5%CO₂培育箱中培养达12小时。在以PBS洗涤细胞系之后,在最低必需培养基中诱导饥饿达一小时。20 μ M的每一载体肽经处理且在37 $^{\circ}$ C下培养达一小时。在重复三次以PBS洗涤细胞的步骤之后,将胰蛋白-EDTA在37 $^{\circ}$ C下处理达10分钟以分离在细胞外部的载体肽。细胞以致冷的PBS收集且执行离心分离作用以重复洗涤细胞的步骤达三次。随后,细胞经悬浮在含有4%多聚甲醛的0.5ml PBS中且细胞的荧光使用FACS Calibur (美国BD公司)分析。比较对照物和与FITC结合的各种肽的细胞摄入态样且通过平均荧光强度 (Mean Fluorescence Intensity; MFI) 分析。

[0169] 结果在图2至图29中显示。图1显示了进行参考的SEQ ID NO:1的pep 1的结果。在图2至图29中所示的分析结果在下表7中详细给出。

[0170] [表7]

	Pep-RIA-1	Pep-RIA-2	Pep-RIA-4	Pep-RIA-5	Pep-RIA-6	Pep-RIA-7	Pep-RIA-8
对照	2.55 \pm 0.59	2.55 \pm 0.59	2.55 \pm 0.59	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87
肽	24.3 \pm 0.61	20.56 \pm 1.23	27.25 \pm 0.79	20.24 \pm 0.34	16.09 \pm 2.52	16.49 \pm 1.35	14.12 \pm 0.79
	Pep-RIA-9	Pep-RIA-10	Pep-RIA-11	Pep-RIA-12	Pep-RIA-13	Pep-RIA-14	Pep-RIA-15
对照	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	2.55 \pm 0.59	2.55 \pm 0.59
肽	12.7 \pm 0.25	14.64 \pm 0.76	15.22 \pm 0.23	12.93 \pm 0.18	15.37 \pm 1.34	23.67 \pm 1.22	16.32 \pm 0.36
	Pep-RIA-16	Pep-RIA-17	Pep-RIA-18	Pep-RIA-22	Pep-RIA-23	Pep-RIA-24	Pep-RIA-25
对照	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	2.55 \pm 0.59	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87
肽	15.96 \pm 2.37	13.61 \pm 0.22	13.4 \pm 0.34	14.42 \pm 0.28	16.57 \pm 0.68	19.42 \pm 0.72	17.41 \pm 0.32
	Pep-RIA-27	Pep-RIA-28	Pep-RIA-29	Pep-RIA-30	Pep-RIA-33	Pep-RIA-34	Pep-RIA-35
对照	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87
肽	19.69 \pm 0.49	14.8 \pm 0.32	15.26 \pm 0.95	15.34 \pm 0.55	15.04 \pm 0.68	16.37 \pm 0.97	13.22 \pm 0.34
	Pep-RIA-36	Pep-RIA-37	Pep-RIA-38	Pep-RIA-39	Pep-RIA-40	Pep-RIA-41	Pep-RIA-42
对照	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87
肽	14.07 \pm 0.41	16.73 \pm 0.28	18.02 \pm 0.71	15.84 \pm 0.79	15.14 \pm 3.52	13.58 \pm 2.78	15.27 \pm 1.65
	Pep-RIA-43	Pep-RIA-45	Pep-RIA-46	Pep-RIA-47	Pep-RIA-49	Pep-RIA-50	Pep-RIA-51
对照	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87	3.98 \pm 0.87
肽	15.34 \pm 1.35	14.23 \pm 1.65	15.35 \pm 0.92	17.6 \pm 0.82	15.15 \pm 0.62	15.47 \pm 0.73	15.13 \pm 1.03
	Pep-RIA-52	Pep-RIA-53	Pep-RIA-54	Pep-RIA-55	Pep-RIA-57	Pep-RIA-58	Pep-RIA-59
对照	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	2.55 \pm 0.59	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26
肽	15.49 \pm 0.29	15.85 \pm 0.74	13.71 \pm 0.11	18.75 \pm 1.51	16.75 \pm 0.48	17.96 \pm 0.97	22.69 \pm 0.66
	Pep-RIA-60	Pep-RIA-62	Pep-RIA-63	Pep-RIA-64	Pep-RIA-65	Pep-RIA-66	Pep-RIA-68
对照	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26
肽	15.93 \pm 1.84	18.89 \pm 0.75	19.72 \pm 0.33	15.51 \pm 0.58	12.84 \pm 1.11	13.46 \pm 0.19	14.94 \pm 1.88
	Pep-RIA-69	Pep-RIA-70	Pep-RIA-71	Pep-RIA-72	Pep-RIA-73	Pep-RIA-74	Pep-RIA-75
对照	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26
肽	13.72 \pm 0.68	16.32 \pm 0.44	17.21 \pm 0.52	21.7 \pm 1.21	24.33 \pm 0.89	21.77 \pm 2.01	26.21 \pm 1.29
	Pep-RIA-76	Pep-RIA-77	Pep-RIA-78	Pep-RIA-79	Pep-RIA-80	Pep-RIA-81	Pep-RIA-82
对照	4.03 \pm 0.26	2.39 \pm 0.23	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26	4.03 \pm 0.26

[0171]

肽	22.07±0.64	87.67±0.93	13.95±0.57	10.73±1.18	14.7±0.79	14.63±0.22	10.12±0.95
	Pep-RIA-83	Pep-RIA-84	Pep-RIA-85	Pep-RIA-86	Pep-RIA-87	Pep-RIA-88	Pep-RIA-89
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	10.27±0.25	10.32±0.49	10.1±0.34	9.95±2.34	9.6±1.76	8.89±0.61	9.13±0.77
	Pep-RIA-90	Pep-RIA-91	Pep-RIA-92	Pep-RIA-93	Pep-RIA-94	Pep-RIA-95	Pep-RIA-96
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	9.77±0.97	19.96±0.51	26.28±0.38	22.88±1.82	21.07±1.56	25.79±0.46	14.96±0.42
	Pep-RIA-97	Pep-RIA-98	Pep-RIA-99	Pep-RIA-100	Pep-RIA-101	Pep-RIA-102	Pep-RIA-103
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	13.68±0.37	14.04±1.55	17.45±0.19	14.69±1.48	12.35±0.28	12.64±0.44	10.44±0.18
	Pep-RIA-104	Pep-RIA-105	Pep-RIA-106	Pep-RIA-107	Pep-RIA-108	Pep-RIA-109	Pep-RIA-110
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	22.51±0.96	19.4±0.59	18.41±1.12	16.41±1.36	14.59±0.17	9.37±0.31	11.89±0.68
	Pep-RIA-111	Pep-RIA-112	Pep-RIA-113	Pep-RIA-115	Pep-RIA-116	Pep-RIA-117	Pep-RIA-118
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	20.53±0.21	15.96±1.24	11.54±1.57	12.13±0.34	11.32±0.99	15.06±0.58	11.41±1.03
	Pep-RIA-119	Pep-RIA-120	Pep-RIA-121	Pep-RIA-122	Pep-RIA-123	Pep-RIA-125	Pep-RIA-126
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	11.19±0.61	10.04±0.53	20.72±0.33	23.8±1.54	17.31±0.68	11.07±0.55	11.51±1.84
	Pep-RIA-127	Pep-RIA-128	Pep-RIA-129	Pep-RIA-130	Pep-RIA-131	Pep-RIA-132	Pep-RIA-133
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	12.15±0.89	12.41±0.16	11.18±0.97	18.54±1.64	13.66±0.87	13.72±0.52	12.95±0.69
	Pep-RIA-134	Pep-RIA-137	Pep-RIA-138	Pep-RIA-139	Pep-RIA-140	Pep-RIA-142	Pep-RIA-143
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	2.39±0.23	2.39±0.23	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	13.28±0.75	10.71±1.99	10.8±0.78	34.19±1.43	21.18±0.11	13.23±0.57	13.24±0.37
	Pep-RIA-144	Pep-RIA-145	Pep-RIA-146	Pep-RIA-147	Pep-RIA-149	Pep-RIA-150	Pep-RIA-151
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26
肽	14.54±0.21	13.85±0.38	17.43±0.49	14.93±1.55	16.2±0.22	14.51±0.81	8.81±0.83
	Pep-RIA-152	Pep-RIA-154	Pep-RIA-155	Pep-RIA-156	Pep-RIA-157	Pep-RIA-158	Pep-RIA-159
对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26

[0172]

	肽 2	12.58±0.47	12.21±1.29	14.31±0.55	12.21±0.24	11.42±0.32	9.91±1.44	12.58±1.08
		Pep-RIA-161	Pep-RIA-165	Pep-RIA-166	Pep-RIA-169	Pep-RIA-174		
[0173]	对照	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26	4.03±0.26		
	肽 1	14.41±0.81	5.75±0.41	6.97±0.53	5.64±0.65	5.66±0.33		

[0174] (2) 在Huh 7细胞系中的细胞穿透性

[0175] 细胞培养

[0176] Huh7 (人肝细胞癌) 细胞系系购自美国细胞培养收藏中心(American Type Cell Culture; ATCC) 并作为悬浮细胞使用。将该细胞在37℃下在5%CO₂培育箱中在具有10%胎牛血清(Invitrogen, 美国)、厄尔氏盐、非必要氨基酸、丙酮酸钠、100μg/ml青霉素及10单位/ml链霉素的MEM培养基中培养。

[0177] 通过流式细胞术所用的细胞穿透性的筛选分析

[0178] 为确认肽的细胞穿透性,以SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178处理Huh7细胞系,并通过流式细胞仪进行分析。还通过实施例(1)针对HeLa细胞所描述的方式来对所述分析方法进行确认。分析的结果在图30至图51中显示。

[0179] (3) 在人T淋巴细胞系中的细胞穿透性实验

[0180] 细胞培养

[0181] Jurkat细胞系(人T细胞白血病细胞系)系购自ATCC并作为悬浮细胞使用。且细胞在37℃下在5%CO₂培育箱中在补充有10%胎牛血清(Invitrogen, 美国)、厄尔氏盐、非必要氨基酸、丙酮酸钠、100μg/ml青霉素及10单位/ml链霉素的RPMI 1640培养基中培养。从健康人血液(50ml)中分离人来源的淋巴细胞,然后利用Biocoll分离溶液(Biochrom AG, 柏林, 德国)收集外周血单核细胞(PBMC)和淋巴细胞的层。

[0182] 利用流式细胞术对细胞穿透性进行筛选分析

[0183] 为确认肽的细胞穿透性,以SEQ ID NO:2至SEQ ID NO:178处理人T细胞淋巴细胞系,并通过流式细胞仪分析。还通过实施例(1)针对HeLa细胞所描述的方式来对所述分析方法进行确认。分析的结果在图52至图69中显示。

[0184] (4) 细胞活性及细胞毒性的分析

[0185] 通过与上述实施例4(1)相同的方式培养HeLa细胞,将其分在96孔培养板中,并在37℃下在5%CO₂培育箱中在含有10%胎牛血清(Invitrogen, 美国)、100μg/ml青霉素及10单位/ml链霉素的培养基中培养12小时。在以PBS洗涤细胞后,在最低必需培养基中诱导饥饿。20μM的各载体肽在37℃处理并培育1小时。在细胞培养后,通过MTT测定分析细胞活性及细胞毒性。结果在图70至图86中显示。

- [0001] <110> 珍白斯凯尔有限公司
 [0002] 金商在
 [0003] <120> 细胞穿透肽、包含其的缀合物、及应用
 [0004] <130> OF13P178/CN
 [0005] <150> KR10-2012-0104173
 [0006] <151> 2012-09-19
 [0007] <150> KR10-2012-0104144
 [0008] <151> 2012-09-19
 [0009] <150> KR10-2012-0109207
 [0010] <151> 2012-09-28
 [0011] <150> KR10-2012-0109216
 [0012] <151> 2012-09-28
 [0013] <150> KR10-2013-0017046
 [0014] <151> 2013-02-18
 [0015] <160> 186
 [0016] <170> PatentIn version 3.2
 [0017] <210> 1
 [0018] <211> 16
 [0019] <212> PRT
 [0020] <213> Homo sapiens
 [0021] <400> 1
 [0022] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0023] 1 5 10 15
 [0024] <210> 2
 [0025] <211> 17
 [0026] <212> PRT
 [0027] <213> Homo sapiens
 [0028] <400> 2
 [0029] Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
 [0030] 1 5 10 15
 [0031] Lys
 [0032] <210> 3
 [0033] <211> 18
 [0034] <212> PRT
 [0035] <213> Homo sapiens
 [0036] <400> 3
 [0037] His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
 [0038] 1 5 10 15

[0039] Pro Lys
 [0040] <210> 4
 [0041] <211> 19
 [0042] <212> PRT
 [0043] <213> Homo sapiens
 [0044] <400> 4
 [0045] Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
 [0046] 1 5 10 15
 [0047] Ile Pro Lys
 [0048] <210> 5
 [0049] <211> 20
 [0050] <212> PRT
 [0051] <213> Homo sapiens
 [0052] <400> 5
 [0053] Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
 [0054] 1 5 10 15
 [0055] Phe Ile Pro Lys
 [0056] 20
 [0057] <210> 6
 [0058] <211> 21
 [0059] <212> PRT
 [0060] <213> Homo sapiens
 [0061] <400> 6
 [0062] Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
 [0063] 1 5 10 15
 [0064] Arg Phe Ile Pro Lys
 [0065] 20
 [0066] <210> 7
 [0067] <211> 22
 [0068] <212> PRT
 [0069] <213> Homo sapiens
 [0070] <400> 7
 [0071] Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0072] 1 5 10 15
 [0073] Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0074] 20
 [0075] <210> 8
 [0076] <211> 23
 [0077] <212> PRT

[0078] <213> Homo sapiens
 [0079] <400> 8
 [0080] Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0081] 1 5 10 15
 [0082] Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0083] 20
 [0084] <210> 9
 [0085] <211> 24
 [0086] <212> PRT
 [0087] <213> Homo sapiens
 [0088] <400> 9
 [0089] Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr
 [0090] 1 5 10 15
 [0091] Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0092] 20
 [0093] <210> 10
 [0094] <211> 25
 [0095] <212> PRT
 [0096] <213> Homo sapiens
 [0097] <400> 10
 [0098] Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu
 [0099] 1 5 10 15
 [0100] Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0101] 20 25
 [0102] <210> 11
 [0103] <211> 26
 [0104] <212> PRT
 [0105] <213> Homo sapiens
 [0106] <400> 11
 [0107] Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu
 [0108] 1 5 10 15
 [0109] Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0110] 20 25
 [0111] <210> 12
 [0112] <211> 27
 [0113] <212> PRT
 [0114] <213> Homo sapiens
 [0115] <400> 12
 [0116] Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala

[0117]	1	5	10	15
[0118]	Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys			
[0119]		20	25	
[0120]	<210> 13			
[0121]	<211> 28			
[0122]	<212> PRT			
[0123]	<213> Homo sapiens			
[0124]	<400> 13			
[0125]	Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro			
[0126]	1	5	10	15
[0127]	Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys			
[0128]		20	25	
[0129]	<210> 14			
[0130]	<211> 29			
[0131]	<212> PRT			
[0132]	<213> Homo sapiens			
[0133]	<400> 14			
[0134]	Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg			
[0135]	1	5	10	15
[0136]	Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys			
[0137]		20	25	
[0138]	<210> 15			
[0139]	<211> 30			
[0140]	<212> PRT			
[0141]	<213> Homo sapiens			
[0142]	<400> 15			
[0143]	Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala			
[0144]	1	5	10	15
[0145]	Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys			
[0146]		20	25	30
[0147]	<210> 16			
[0148]	<211> 18			
[0149]	<212> PRT			
[0150]	<213> Homo sapiens			
[0151]	<400> 16			
[0152]	Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro			
[0153]	1	5	10	15
[0154]	Lys Pro			
[0155]	<210> 17			

[0195]	1	5	10	15
[0196]	Ile Pro Lys Pro Asp			
[0197]	20			
[0198]	<210> 22			
[0199]	<211> 22			
[0200]	<212> PRT			
[0201]	<213> Homo sapiens			
[0202]	<400> 22			
[0203]	Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe			
[0204]	1	5	10	15
[0205]	Ile Pro Lys Pro Asp Gly			
[0206]	20			
[0207]	<210> 23			
[0208]	<211> 21			
[0209]	<212> PRT			
[0210]	<213> Homo sapiens			
[0211]	<400> 23			
[0212]	His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile			
[0213]	1	5	10	15
[0214]	Pro Lys Pro Asp Gly			
[0215]	20			
[0216]	<210> 24			
[0217]	<211> 20			
[0218]	<212> PRT			
[0219]	<213> Homo sapiens			
[0220]	<400> 24			
[0221]	Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro			
[0222]	1	5	10	15
[0223]	Lys Pro Asp Gly			
[0224]	20			
[0225]	<210> 25			
[0226]	<211> 21			
[0227]	<212> PRT			
[0228]	<213> Homo sapiens			
[0229]	<400> 25			
[0230]	Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg			
[0231]	1	5	10	15
[0232]	Phe Ile Pro Lys Pro			
[0233]	20			

[0234] <210> 26
 [0235] <211> 22
 [0236] <212> PRT
 [0237] <213> Homo sapiens
 [0238] <400> 26
 [0239] Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
 [0240] 1 5 10 15
 [0241] Phe Ile Pro Lys Pro Asp
 [0242] 20
 [0243] <210> 27
 [0244] <211> 23
 [0245] <212> PRT
 [0246] <213> Homo sapiens
 [0247] <400> 27
 [0248] Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
 [0249] 1 5 10 15
 [0250] Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly
 [0251] 20
 [0252] <210> 28
 [0253] <211> 24
 [0254] <212> PRT
 [0255] <213> Homo sapiens
 [0256] <400> 28
 [0257] Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
 [0258] 1 5 10 15
 [0259] Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
 [0260] 20
 [0261] <210> 29
 [0262] <211> 23
 [0263] <212> PRT
 [0264] <213> Homo sapiens
 [0265] <400> 29
 [0266] Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
 [0267] 1 5 10 15
 [0268] Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
 [0269] 20
 [0270] <210> 30
 [0271] <211> 22
 [0272] <212> PRT

[0273] <213> Homo sapiens
 [0274] <400> 30
 [0275] His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
 [0276] 1 5 10 15
 [0277] Pro Lys Pro Asp Gly Leu
 [0278] 20
 [0279] <210> 31
 [0280] <211> 21
 [0281] <212> PRT
 [0282] <213> Homo sapiens
 [0283] <400> 31
 [0284] Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
 [0285] 1 5 10 15
 [0286] Lys Pro Asp Gly Leu
 [0287] 20
 [0288] <210> 32
 [0289] <211> 22
 [0290] <212> PRT
 [0291] <213> Homo sapiens
 [0292] <400> 32
 [0293] Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
 [0294] 1 5 10 15
 [0295] Arg Phe Ile Pro Lys Pro
 [0296] 20
 [0297] <210> 33
 [0298] <211> 23
 [0299] <212> PRT
 [0300] <213> Homo sapiens
 [0301] <400> 33
 [0302] Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
 [0303] 1 5 10 15
 [0304] Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp
 [0305] 20
 [0306] <210> 34
 [0307] <211> 24
 [0308] <212> PRT
 [0309] <213> Homo sapiens
 [0310] <400> 34
 [0311] Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu

[0312]	1	5	10	15
[0313]	Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly			
[0314]	20			
[0315]	<210> 35			
[0316]	<211> 25			
[0317]	<212> PRT			
[0318]	<213> Homo sapiens			
[0319]	<400> 35			
[0320]	Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu			
[0321]	1	5	10	15
[0322]	Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu			
[0323]	20		25	
[0324]	<210> 36			
[0325]	<211> 26			
[0326]	<212> PRT			
[0327]	<213> Homo sapiens			
[0328]	<400> 36			
[0329]	Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu			
[0330]	1	5	10	15
[0331]	Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg			
[0332]	20		25	
[0333]	<210> 37			
[0334]	<211> 25			
[0335]	<212> PRT			
[0336]	<213> Homo sapiens			
[0337]	<400> 37			
[0338]	Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg			
[0339]	1	5	10	15
[0340]	Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg			
[0341]	20		25	
[0342]	<210> 38			
[0343]	<211> 24			
[0344]	<212> PRT			
[0345]	<213> Homo sapiens			
[0346]	<400> 38			
[0347]	Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe			
[0348]	1	5	10	15
[0349]	Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg			
[0350]	20			

[0351] <210> 39
 [0352] <211> 23
 [0353] <212> PRT
 [0354] <213> Homo sapiens
 [0355] <400> 39
 [0356] His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
 [0357] 1 5 10 15
 [0358] Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
 [0359] 20
 [0360] <210> 40
 [0361] <211> 22
 [0362] <212> PRT
 [0363] <213> Homo sapiens
 [0364] <400> 40
 [0365] Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
 [0366] 1 5 10 15
 [0367] Lys Pro Asp Gly Leu Arg
 [0368] 20
 [0369] <210> 41
 [0370] <211> 23
 [0371] <212> PRT
 [0372] <213> Homo sapiens
 [0373] <400> 41
 [0374] Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0375] 1 5 10 15
 [0376] Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro
 [0377] 20
 [0378] <210> 42
 [0379] <211> 24
 [0380] <212> PRT
 [0381] <213> Homo sapiens
 [0382] <400> 42
 [0383] Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0384] 1 5 10 15
 [0385] Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp
 [0386] 20
 [0387] <210> 43
 [0388] <211> 25
 [0389] <212> PRT

[0390] <213> Homo sapiens
 [0391] <400> 43
 [0392] Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0393] 1 5 10 15
 [0394] Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly
 [0395] 20 25
 [0396] <210> 44
 [0397] <211> 26
 [0398] <212> PRT
 [0399] <213> Homo sapiens
 [0400] <400> 44
 [0401] Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0402] 1 5 10 15
 [0403] Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
 [0404] 20 25
 [0405] <210> 45
 [0406] <211> 27
 [0407] <212> PRT
 [0408] <213> Homo sapiens
 [0409] <400> 45
 [0410] Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0411] 1 5 10 15
 [0412] Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
 [0413] 20 25
 [0414] <210> 46
 [0415] <211> 28
 [0416] <212> PRT
 [0417] <213> Homo sapiens
 [0418] <400> 46
 [0419] Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0420] 1 5 10 15
 [0421] Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
 [0422] 20 25
 [0423] <210> 47
 [0424] <211> 27
 [0425] <212> PRT
 [0426] <213> Homo sapiens
 [0427] <400> 47
 [0428] Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu

[0429]	1	5	10	15
[0430]	Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro			
[0431]		20	25	
[0432]	<210> 48			
[0433]	<211> 26			
[0434]	<212> PRT			
[0435]	<213> Homo sapiens			
[0436]	<400> 48			
[0437]	Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg			
[0438]	1	5	10	15
[0439]	Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro			
[0440]		20	25	
[0441]	<210> 49			
[0442]	<211> 25			
[0443]	<212> PRT			
[0444]	<213> Homo sapiens			
[0445]	<400> 49			
[0446]	Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe			
[0447]	1	5	10	15
[0448]	Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro			
[0449]		20	25	
[0450]	<210> 50			
[0451]	<211> 24			
[0452]	<212> PRT			
[0453]	<213> Homo sapiens			
[0454]	<400> 50			
[0455]	His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile			
[0456]	1	5	10	15
[0457]	Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro			
[0458]		20		
[0459]	<210> 51			
[0460]	<211> 23			
[0461]	<212> PRT			
[0462]	<213> Homo sapiens			
[0463]	<400> 51			
[0464]	Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro			
[0465]	1	5	10	15
[0466]	Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro			
[0467]		20		

[0468] <210> 52
 [0469] <211> 24
 [0470] <212> PRT
 [0471] <213> Homo sapiens
 [0472] <400> 52
 [0473] Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0474] 1 5 10 15
 [0475] Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro
 [0476] 20
 [0477] <210> 53
 [0478] <211> 25
 [0479] <212> PRT
 [0480] <213> Homo sapiens
 [0481] <400> 53
 [0482] Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0483] 1 5 10 15
 [0484] Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp
 [0485] 20 25
 [0486] <210> 54
 [0487] <211> 26
 [0488] <212> PRT
 [0489] <213> Homo sapiens
 [0490] <400> 54
 [0491] Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0492] 1 5 10 15
 [0493] Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly
 [0494] 20 25
 [0495] <210> 55
 [0496] <211> 27
 [0497] <212> PRT
 [0498] <213> Homo sapiens
 [0499] <400> 55
 [0500] Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0501] 1 5 10 15
 [0502] Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu
 [0503] 20 25
 [0504] <210> 56
 [0505] <211> 28
 [0506] <212> PRT

[0507] <213> Homo sapiens
 [0508] <400> 56
 [0509] Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0510] 1 5 10 15
 [0511] Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg
 [0512] 20 25
 [0513] <210> 57
 [0514] <211> 29
 [0515] <212> PRT
 [0516] <213> Homo sapiens
 [0517] <400> 57
 [0518] Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0519] 1 5 10 15
 [0520] Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro
 [0521] 20 25
 [0522] <210> 58
 [0523] <211> 30
 [0524] <212> PRT
 [0525] <213> Homo sapiens
 [0526] <400> 58
 [0527] Ala Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0528] 1 5 10 15
 [0529] Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
 [0530] 20 25 30
 [0531] <210> 59
 [0532] <211> 29
 [0533] <212> PRT
 [0534] <213> Homo sapiens
 [0535] <400> 59
 [0536] Glu Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0537] 1 5 10 15
 [0538] Leu Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile
 [0539] 20 25
 [0540] <210> 60
 [0541] <211> 28
 [0542] <212> PRT
 [0543] <213> Homo sapiens
 [0544] <400> 60
 [0545] Val Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu

[0546]	1	5	10	15
[0547]	Arg Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile			
[0548]	20	25		
[0549]	<210> 61			
[0550]	<211> 27			
[0551]	<212> PRT			
[0552]	<213> Homo sapiens			
[0553]	<400> 61			
[0554]	Arg Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg			
[0555]	1	5	10	15
[0556]	Phe Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile			
[0557]	20	25		
[0558]	<210> 62			
[0559]	<211> 26			
[0560]	<212> PRT			
[0561]	<213> Homo sapiens			
[0562]	<400> 62			
[0563]	Gln His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe			
[0564]	1	5	10	15
[0565]	Ile Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile			
[0566]	20	25		
[0567]	<210> 63			
[0568]	<211> 25			
[0569]	<212> PRT			
[0570]	<213> Homo sapiens			
[0571]	<400> 63			
[0572]	His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile			
[0573]	1	5	10	15
[0574]	Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile			
[0575]	20	25		
[0576]	<210> 64			
[0577]	<211> 24			
[0578]	<212> PRT			
[0579]	<213> Homo sapiens			
[0580]	<400> 64			
[0581]	Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro			
[0582]	1	5	10	15
[0583]	Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile			
[0584]	20			

[0585] <210> 65
 [0586] <211> 17
 [0587] <212> PRT
 [0588] <213> Homo sapiens
 [0589] <400> 65
 [0590] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0591] 1 5 10 15
 [0592] Pro
 [0593] <210> 66
 [0594] <211> 18
 [0595] <212> PRT
 [0596] <213> Homo sapiens
 [0597] <400> 66
 [0598] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0599] 1 5 10 15
 [0600] Pro Asp
 [0601] <210> 67
 [0602] <211> 19
 [0603] <212> PRT
 [0604] <213> Homo sapiens
 [0605] <400> 67
 [0606] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0607] 1 5 10 15
 [0608] Pro Asp Gly
 [0609] <210> 68
 [0610] <211> 21
 [0611] <212> PRT
 [0612] <213> Homo sapiens
 [0613] <400> 68
 [0614] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0615] 1 5 10 15
 [0616] Pro Asp Gly Leu Arg
 [0617] 20
 [0618] <210> 69
 [0619] <211> 22
 [0620] <212> PRT
 [0621] <213> Homo sapiens
 [0622] <400> 69
 [0623] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys

[0624]	1	5	10	15
[0625]	Pro Asp Gly Leu Arg Pro			
[0626]	20			
[0627]	<210> 70			
[0628]	<211> 23			
[0629]	<212> PRT			
[0630]	<213> Homo sapiens			
[0631]	<400> 70			
[0632]	Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys			
[0633]	1	5	10	15
[0634]	Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile			
[0635]	20			
[0636]	<210> 71			
[0637]	<211> 24			
[0638]	<212> PRT			
[0639]	<213> Homo sapiens			
[0640]	<400> 71			
[0641]	Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys			
[0642]	1	5	10	15
[0643]	Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val			
[0644]	20			
[0645]	<210> 72			
[0646]	<211> 25			
[0647]	<212> PRT			
[0648]	<213> Homo sapiens			
[0649]	<400> 72			
[0650]	Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys			
[0651]	1	5	10	15
[0652]	Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn			
[0653]	20		25	
[0654]	<210> 73			
[0655]	<211> 26			
[0656]	<212> PRT			
[0657]	<213> Homo sapiens			
[0658]	<400> 73			
[0659]	Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys			
[0660]	1	5	10	15
[0661]	Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met			
[0662]	20		25	

[0663] <210> 74
 [0664] <211> 27
 [0665] <212> PRT
 [0666] <213> Homo sapiens
 [0667] <400> 74
 [0668] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0669] 1 5 10 15
 [0670] Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp
 [0671] 20 25
 [0672] <210> 75
 [0673] <211> 28
 [0674] <212> PRT
 [0675] <213> Homo sapiens
 [0676] <400> 75
 [0677] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0678] 1 5 10 15
 [0679] Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr
 [0680] 20 25
 [0681] <210> 76
 [0682] <211> 29
 [0683] <212> PRT
 [0684] <213> Homo sapiens
 [0685] <400> 76
 [0686] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0687] 1 5 10 15
 [0688] Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val
 [0689] 20 25
 [0690] <210> 77
 [0691] <211> 30
 [0692] <212> PRT
 [0693] <213> Homo sapiens
 [0694] <400> 77
 [0695] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0696] 1 5 10 15
 [0697] Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val
 [0698] 20 25 30
 [0699] <210> 78
 [0700] <211> 15
 [0701] <212> PRT

[0702] <213> Homo sapiens
 [0703] <400> 78
 [0704] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
 [0705] 1 5 10 15
 [0706] <210> 79
 [0707] <211> 14
 [0708] <212> PRT
 [0709] <213> Homo sapiens
 [0710] <400> 79
 [0711] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
 [0712] 1 5 10
 [0713] <210> 80
 [0714] <211> 13
 [0715] <212> PRT
 [0716] <213> Homo sapiens
 [0717] <400> 80
 [0718] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
 [0719] 1 5 10
 [0720] <210> 81
 [0721] <211> 12
 [0722] <212> PRT
 [0723] <213> Homo sapiens
 [0724] <400> 81
 [0725] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
 [0726] 1 5 10
 [0727] <210> 82
 [0728] <211> 11
 [0729] <212> PRT
 [0730] <213> Homo sapiens
 [0731] <400> 82
 [0732] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
 [0733] 1 5 10
 [0734] <210> 83
 [0735] <211> 10
 [0736] <212> PRT
 [0737] <213> Homo sapiens
 [0738] <400> 83
 [0739] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0740] 1 5 10

[0741] <210> 84
[0742] <211> 9
[0743] <212> PRT
[0744] <213> Homo sapiens
[0745] <400> 84
[0746] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
[0747] 1 5
[0748] <210> 85
[0749] <211> 8
[0750] <212> PRT
[0751] <213> Homo sapiens
[0752] <400> 85
[0753] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr
[0754] 1 5
[0755] <210> 86
[0756] <211> 7
[0757] <212> PRT
[0758] <213> Homo sapiens
[0759] <400> 86
[0760] Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu
[0761] 1 5
[0762] <210> 87
[0763] <211> 6
[0764] <212> PRT
[0765] <213> Homo sapiens
[0766] <400> 87
[0767] Glu Ala Arg Pro Ala Leu
[0768] 1 5
[0769] <210> 88
[0770] <211> 5
[0771] <212> PRT
[0772] <213> Homo sapiens
[0773] <400> 88
[0774] Glu Ala Arg Pro Ala
[0775] 1 5
[0776] <210> 89
[0777] <211> 4
[0778] <212> PRT
[0779] <213> Homo sapiens

[0780] <400> 89
 [0781] Glu Ala Arg Pro
 [0782] 1
 [0783] <210> 90
 [0784] <211> 3
 [0785] <212> PRT
 [0786] <213> Homo sapiens
 [0787] <400> 90
 [0788] Glu Ala Arg
 [0789] 1
 [0790] <210> 91
 [0791] <211> 15
 [0792] <212> PRT
 [0793] <213> Homo sapiens
 [0794] <400> 91
 [0795] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0796] 1 5 10 15
 [0797] <210> 92
 [0798] <211> 14
 [0799] <212> PRT
 [0800] <213> Homo sapiens
 [0801] <400> 92
 [0802] Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0803] 1 5 10
 [0804] <210> 93
 [0805] <211> 13
 [0806] <212> PRT
 [0807] <213> Homo sapiens
 [0808] <400> 93
 [0809] Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0810] 1 5 10
 [0811] <210> 94
 [0812] <211> 12
 [0813] <212> PRT
 [0814] <213> Homo sapiens
 [0815] <400> 94
 [0816] Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro Lys
 [0817] 1 5 10
 [0818] <210> 95

[0858] Leu Arg Phe Ile Pro Lys
[0859] 1 5
[0860] <210> 101
[0861] <211> 5
[0862] <212> PRT
[0863] <213> Homo sapiens
[0864] <400> 101
[0865] Arg Phe Ile Pro Lys
[0866] 1 5
[0867] <210> 102
[0868] <211> 4
[0869] <212> PRT
[0870] <213> Homo sapiens
[0871] <400> 102
[0872] Phe Ile Pro Lys
[0873] 1
[0874] <210> 103
[0875] <211> 3
[0876] <212> PRT
[0877] <213> Homo sapiens
[0878] <400> 103
[0879] Ile Pro Lys
[0880] 1
[0881] <210> 104
[0882] <211> 14
[0883] <212> PRT
[0884] <213> Homo sapiens
[0885] <400> 104
[0886] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
[0887] 1 5 10
[0888] <210> 105
[0889] <211> 12
[0890] <212> PRT
[0891] <213> Homo sapiens
[0892] <400> 105
[0893] Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
[0894] 1 5 10
[0895] <210> 106
[0896] <211> 10

[0897] <212> PRT
[0898] <213> Homo sapiens
[0899] <400> 106
[0900] Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
[0901] 1 5 10
[0902] <210> 107
[0903] <211> 8
[0904] <212> PRT
[0905] <213> Homo sapiens
[0906] <400> 107
[0907] Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
[0908] 1 5
[0909] <210> 108
[0910] <211> 6
[0911] <212> PRT
[0912] <213> Homo sapiens
[0913] <400> 108
[0914] Leu Leu Thr Ser Arg Leu
[0915] 1 5
[0916] <210> 109
[0917] <211> 4
[0918] <212> PRT
[0919] <213> Homo sapiens
[0920] <400> 109
[0921] Leu Thr Ser Arg
[0922] 1
[0923] <210> 110
[0924] <211> 13
[0925] <212> PRT
[0926] <213> Homo sapiens
[0927] <400> 110
[0928] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
[0929] 1 5 10
[0930] <210> 111
[0931] <211> 12
[0932] <212> PRT
[0933] <213> Homo sapiens
[0934] <400> 111
[0935] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe

[0936] 1 5 10
 [0937] <210> 112
 [0938] <211> 11
 [0939] <212> PRT
 [0940] <213> Homo sapiens
 [0941] <400> 112
 [0942] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
 [0943] 1 5 10
 [0944] <210> 113
 [0945] <211> 10
 [0946] <212> PRT
 [0947] <213> Homo sapiens
 [0948] <400> 113
 [0949] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
 [0950] 1 5 10
 [0951] <210> 114
 [0952] <211> 9
 [0953] <212> PRT
 [0954] <213> Homo sapiens
 [0955] <400> 114
 [0956] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
 [0957] 1 5
 [0958] <210> 115
 [0959] <211> 8
 [0960] <212> PRT
 [0961] <213> Homo sapiens
 [0962] <400> 115
 [0963] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
 [0964] 1 5
 [0965] <210> 116
 [0966] <211> 7
 [0967] <212> PRT
 [0968] <213> Homo sapiens
 [0969] <400> 116
 [0970] Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr
 [0971] 1 5
 [0972] <210> 117
 [0973] <211> 6
 [0974] <212> PRT

[0975] <213> Homo sapiens
 [0976] <400> 117
 [0977] Ala Arg Pro Ala Leu Leu
 [0978] 1 5
 [0979] <210> 118
 [0980] <211> 5
 [0981] <212> PRT
 [0982] <213> Homo sapiens
 [0983] <400> 118
 [0984] Ala Arg Pro Ala Leu
 [0985] 1 5
 [0986] <210> 119
 [0987] <211> 4
 [0988] <212> PRT
 [0989] <213> Homo sapiens
 [0990] <400> 119
 [0991] Ala Arg Pro Ala
 [0992] 1
 [0993] <210> 120
 [0994] <211> 3
 [0995] <212> PRT
 [0996] <213> Homo sapiens
 [0997] <400> 120
 [0998] Ala Arg Pro
 [0999] 1
 [1000] <210> 121
 [1001] <211> 13
 [1002] <212> PRT
 [1003] <213> Homo sapiens
 [1004] <400> 121
 [1005] Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
 [1006] 1 5 10
 [1007] <210> 122
 [1008] <211> 11
 [1009] <212> PRT
 [1010] <213> Homo sapiens
 [1011] <400> 122
 [1012] Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
 [1013] 1 5 10

[1014] <210> 123
[1015] <211> 10
[1016] <212> PRT
[1017] <213> Homo sapiens
[1018] <400> 123
[1019] Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
[1020] 1 5 10
[1021] <210> 124
[1022] <211> 8
[1023] <212> PRT
[1024] <213> Homo sapiens
[1025] <400> 124
[1026] Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
[1027] 1 5
[1028] <210> 125
[1029] <211> 7
[1030] <212> PRT
[1031] <213> Homo sapiens
[1032] <400> 125
[1033] Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser
[1034] 1 5
[1035] <210> 126
[1036] <211> 6
[1037] <212> PRT
[1038] <213> Homo sapiens
[1039] <400> 126
[1040] Arg Pro Ala Leu Leu Thr
[1041] 1 5
[1042] <210> 127
[1043] <211> 5
[1044] <212> PRT
[1045] <213> Homo sapiens
[1046] <400> 127
[1047] Arg Pro Ala Leu Leu
[1048] 1 5
[1049] <210> 128
[1050] <211> 4
[1051] <212> PRT
[1052] <213> Homo sapiens

- [1053] <400> 128
[1054] Arg Pro Ala Leu
[1055] 1
[1056] <210> 129
[1057] <211> 3
[1058] <212> PRT
[1059] <213> Homo sapiens
[1060] <400> 129
[1061] Arg Pro Ala
[1062] 1
[1063] <210> 130
[1064] <211> 12
[1065] <212> PRT
[1066] <213> Homo sapiens
[1067] <400> 130
[1068] Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
[1069] 1 5 10
[1070] <210> 131
[1071] <211> 11
[1072] <212> PRT
[1073] <213> Homo sapiens
[1074] <400> 131
[1075] Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
[1076] 1 5 10
[1077] <210> 132
[1078] <211> 9
[1079] <212> PRT
[1080] <213> Homo sapiens
[1081] <400> 132
[1082] Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
[1083] 1 5
[1084] <210> 133
[1085] <211> 8
[1086] <212> PRT
[1087] <213> Homo sapiens
[1088] <400> 133
[1089] Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
[1090] 1 5
[1091] <210> 134

[1092] <211> 7
[1093] <212> PRT
[1094] <213> Homo sapiens
[1095] <400> 134
[1096] Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg
[1097] 1 5
[1098] <210> 135
[1099] <211> 6
[1100] <212> PRT
[1101] <213> Homo sapiens
[1102] <400> 135
[1103] Pro Ala Leu Leu Thr Ser
[1104] 1 5
[1105] <210> 136
[1106] <211> 5
[1107] <212> PRT
[1108] <213> Homo sapiens
[1109] <400> 136
[1110] Pro Ala Leu Leu Thr
[1111] 1 5
[1112] <210> 137
[1113] <211> 4
[1114] <212> PRT
[1115] <213> Homo sapiens
[1116] <400> 137
[1117] Pro Ala Leu Leu
[1118] 1
[1119] <210> 138
[1120] <211> 3
[1121] <212> PRT
[1122] <213> Homo sapiens
[1123] <400> 138
[1124] Pro Ala Leu
[1125] 1
[1126] <210> 139
[1127] <211> 11
[1128] <212> PRT
[1129] <213> Homo sapiens
[1130] <400> 139

[1131] Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
[1132] 1 5 10
[1133] <210> 140
[1134] <211> 9
[1135] <212> PRT
[1136] <213> Homo sapiens
[1137] <400> 140
[1138] Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
[1139] 1 5
[1140] <210> 141
[1141] <211> 7
[1142] <212> PRT
[1143] <213> Homo sapiens
[1144] <400> 141
[1145] Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu
[1146] 1 5
[1147] <210> 142
[1148] <211> 6
[1149] <212> PRT
[1150] <213> Homo sapiens
[1151] <400> 142
[1152] Ala Leu Leu Thr Ser Arg
[1153] 1 5
[1154] <210> 143
[1155] <211> 5
[1156] <212> PRT
[1157] <213> Homo sapiens
[1158] <400> 143
[1159] Ala Leu Leu Thr Ser
[1160] 1 5
[1161] <210> 144
[1162] <211> 4
[1163] <212> PRT
[1164] <213> Homo sapiens
[1165] <400> 144
[1166] Ala Leu Leu Thr
[1167] 1
[1168] <210> 145
[1169] <211> 3

[1170] <212> PRT
[1171] <213> Homo sapiens
[1172] <400> 145
[1173] Ala Leu Leu
[1174] 1
[1175] <210> 146
[1176] <211> 10
[1177] <212> PRT
[1178] <213> Homo sapiens
[1179] <400> 146
[1180] Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
[1181] 1 5 10
[1182] <210> 147
[1183] <211> 9
[1184] <212> PRT
[1185] <213> Homo sapiens
[1186] <400> 147
[1187] Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
[1188] 1 5
[1189] <210> 148
[1190] <211> 7
[1191] <212> PRT
[1192] <213> Homo sapiens
[1193] <400> 148
[1194] Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg
[1195] 1 5
[1196] <210> 149
[1197] <211> 5
[1198] <212> PRT
[1199] <213> Homo sapiens
[1200] <400> 149
[1201] Leu Leu Thr Ser Arg
[1202] 1 5
[1203] <210> 150
[1204] <211> 4
[1205] <212> PRT
[1206] <213> Homo sapiens
[1207] <400> 150
[1208] Leu Leu Thr Ser

- [1209] 1
[1210] <210> 151
[1211] <211> 3
[1212] <212> PRT
[1213] <213> Homo sapiens
[1214] <400> 151
[1215] Leu Leu Thr
[1216] 1
[1217] <210> 152
[1218] <211> 9
[1219] <212> PRT
[1220] <213> Homo sapiens
[1221] <400> 152
[1222] Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
[1223] 1 5
[1224] <210> 153
[1225] <211> 8
[1226] <212> PRT
[1227] <213> Homo sapiens
[1228] <400> 153
[1229] Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
[1230] 1 5
[1231] <210> 154
[1232] <211> 7
[1233] <212> PRT
[1234] <213> Homo sapiens
[1235] <400> 154
[1236] Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe
[1237] 1 5
[1238] <210> 155
[1239] <211> 6
[1240] <212> PRT
[1241] <213> Homo sapiens
[1242] <400> 155
[1243] Leu Thr Ser Arg Leu Arg
[1244] 1 5
[1245] <210> 156
[1246] <211> 5
[1247] <212> PRT

[1248] <213> Homo sapiens
[1249] <400> 156
[1250] Leu Thr Ser Arg Leu
[1251] 1 5
[1252] <210> 157
[1253] <211> 3
[1254] <212> PRT
[1255] <213> Homo sapiens
[1256] <400> 157
[1257] Leu Thr Ser
[1258] 1
[1259] <210> 158
[1260] <211> 8
[1261] <212> PRT
[1262] <213> Homo sapiens
[1263] <400> 158
[1264] Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
[1265] 1 5
[1266] <210> 159
[1267] <211> 7
[1268] <212> PRT
[1269] <213> Homo sapiens
[1270] <400> 159
[1271] Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile
[1272] 1 5
[1273] <210> 160
[1274] <211> 6
[1275] <212> PRT
[1276] <213> Homo sapiens
[1277] <400> 160
[1278] Thr Ser Arg Leu Arg Phe
[1279] 1 5
[1280] <210> 161
[1281] <211> 5
[1282] <212> PRT
[1283] <213> Homo sapiens
[1284] <400> 161
[1285] Thr Ser Arg Leu Arg
[1286] 1 5

[1287] <210> 162
[1288] <211> 4
[1289] <212> PRT
[1290] <213> Homo sapiens
[1291] <400> 162
[1292] Thr Ser Arg Leu
[1293] 1
[1294] <210> 163
[1295] <211> 3
[1296] <212> PRT
[1297] <213> Homo sapiens
[1298] <400> 163
[1299] Thr Ser Arg
[1300] 1
[1301] <210> 164
[1302] <211> 7
[1303] <212> PRT
[1304] <213> Homo sapiens
[1305] <400> 164
[1306] Ser Arg Leu Arg Phe Ile Pro
[1307] 1 5
[1308] <210> 165
[1309] <211> 6
[1310] <212> PRT
[1311] <213> Homo sapiens
[1312] <400> 165
[1313] Ser Arg Leu Arg Phe Ile
[1314] 1 5
[1315] <210> 166
[1316] <211> 5
[1317] <212> PRT
[1318] <213> Homo sapiens
[1319] <400> 166
[1320] Ser Arg Leu Arg Phe
[1321] 1 5
[1322] <210> 167
[1323] <211> 4
[1324] <212> PRT
[1325] <213> Homo sapiens

- [1326] <400> 167
[1327] Ser Arg Leu Arg
[1328] 1
[1329] <210> 168
[1330] <211> 3
[1331] <212> PRT
[1332] <213> Homo sapiens
[1333] <400> 168
[1334] Ser Arg Leu
[1335] 1
[1336] <210> 169
[1337] <211> 6
[1338] <212> PRT
[1339] <213> Homo sapiens
[1340] <400> 169
[1341] Arg Leu Arg Phe Ile Pro
[1342] 1 5
[1343] <210> 170
[1344] <211> 5
[1345] <212> PRT
[1346] <213> Homo sapiens
[1347] <400> 170
[1348] Arg Leu Arg Phe Ile
[1349] 1 5
[1350] <210> 171
[1351] <211> 4
[1352] <212> PRT
[1353] <213> Homo sapiens
[1354] <400> 171
[1355] Arg Leu Arg Phe
[1356] 1
[1357] <210> 172
[1358] <211> 3
[1359] <212> PRT
[1360] <213> Homo sapiens
[1361] <400> 172
[1362] Arg Leu Arg
[1363] 1
[1364] <210> 173

[1365] <211> 5
[1366] <212> PRT
[1367] <213> Homo sapiens
[1368] <400> 173
[1369] Leu Arg Phe Ile Pro
[1370] 1 5
[1371] <210> 174
[1372] <211> 4
[1373] <212> PRT
[1374] <213> Homo sapiens
[1375] <400> 174
[1376] Leu Arg Phe Ile
[1377] 1
[1378] <210> 175
[1379] <211> 3
[1380] <212> PRT
[1381] <213> Homo sapiens
[1382] <400> 175
[1383] Leu Arg Phe
[1384] 1
[1385] <210> 176
[1386] <211> 4
[1387] <212> PRT
[1388] <213> Homo sapiens
[1389] <400> 176
[1390] Arg Phe Ile Pro
[1391] 1
[1392] <210> 177
[1393] <211> 3
[1394] <212> PRT
[1395] <213> Homo sapiens
[1396] <400> 177
[1397] Arg Phe Ile
[1398] 1
[1399] <210> 178
[1400] <211> 3
[1401] <212> PRT
[1402] <213> Homo sapiens
[1403] <400> 178

[1404] Phe Ile Pro
 [1405] 1
 [1406] <210> 179
 [1407] <211> 1132
 [1408] <212> PRT
 [1409] <213> Homo sapiens
 [1410] <400> 179
 [1411] Met Pro Arg Ala Pro Arg Cys Arg Ala Val Arg Ser Leu Leu Arg Ser
 [1412] 1 5 10 15
 [1413] His Tyr Arg Glu Val Leu Pro Leu Ala Thr Phe Val Arg Arg Leu Gly
 [1414] 20 25 30
 [1415] Pro Gln Gly Trp Arg Leu Val Gln Arg Gly Asp Pro Ala Ala Phe Arg
 [1416] 35 40 45
 [1417] Ala Leu Val Ala Gln Cys Leu Val Cys Val Pro Trp Asp Ala Arg Pro
 [1418] 50 55 60
 [1419] Pro Pro Ala Ala Pro Ser Phe Arg Gln Val Ser Cys Leu Lys Glu Leu
 [1420] 65 70 75 80
 [1421] Val Ala Arg Val Leu Gln Arg Leu Cys Glu Arg Gly Ala Lys Asn Val
 [1422] 85 90 95
 [1423] Leu Ala Phe Gly Phe Ala Leu Leu Asp Gly Ala Arg Gly Gly Pro Pro
 [1424] 100 105 110
 [1425] Glu Ala Phe Thr Thr Ser Val Arg Ser Tyr Leu Pro Asn Thr Val Thr
 [1426] 115 120 125
 [1427] Asp Ala Leu Arg Gly Ser Gly Ala Trp Gly Leu Leu Leu Arg Arg Val
 [1428] 130 135 140
 [1429] Gly Asp Asp Val Leu Val His Leu Leu Ala Arg Cys Ala Leu Phe Val
 [1430] 145 150 155 160
 [1431] Leu Val Ala Pro Ser Cys Ala Tyr Gln Val Cys Gly Pro Pro Leu Tyr
 [1432] 165 170 175
 [1433] Gln Leu Gly Ala Ala Thr Gln Ala Arg Pro Pro Pro His Ala Ser Gly
 [1434] 180 185 190
 [1435] Pro Arg Arg Arg Leu Gly Cys Glu Arg Ala Trp Asn His Ser Val Arg
 [1436] 195 200 205
 [1437] Glu Ala Gly Val Pro Leu Gly Leu Pro Ala Pro Gly Ala Arg Arg Arg
 [1438] 210 215 220
 [1439] Gly Gly Ser Ala Ser Arg Ser Leu Pro Leu Pro Lys Arg Pro Arg Arg
 [1440] 225 230 235 240
 [1441] Gly Ala Ala Pro Glu Pro Glu Arg Thr Pro Val Gly Gln Gly Ser Trp
 [1442] 245 250 255

[1443]	Ala His Pro Gly Arg Thr Arg Gly Pro Ser Asp Arg Gly Phe Cys Val
[1444]	260 265 270
[1445]	Val Ser Pro Ala Arg Pro Ala Glu Glu Ala Thr Ser Leu Glu Gly Ala
[1446]	275 280 285
[1447]	Leu Ser Gly Thr Arg His Ser His Pro Ser Val Gly Arg Gln His His
[1448]	290 295 300
[1449]	Ala Gly Pro Pro Ser Thr Ser Arg Pro Pro Arg Pro Trp Asp Thr Pro
[1450]	305 310 315 320
[1451]	Cys Pro Pro Val Tyr Ala Glu Thr Lys His Phe Leu Tyr Ser Ser Gly
[1452]	325 330 335
[1453]	Asp Lys Glu Gln Leu Arg Pro Ser Phe Leu Leu Ser Ser Leu Arg Pro
[1454]	340 345 350
[1455]	Ser Leu Thr Gly Ala Arg Arg Leu Val Glu Thr Ile Phe Leu Gly Ser
[1456]	355 360 365
[1457]	Arg Pro Trp Met Pro Gly Thr Pro Arg Arg Leu Pro Arg Leu Pro Gln
[1458]	370 375 380
[1459]	Arg Tyr Trp Gln Met Arg Pro Leu Phe Leu Glu Leu Leu Gly Asn His
[1460]	385 390 395 400
[1461]	Ala Gln Cys Pro Tyr Gly Val Leu Leu Lys Thr His Cys Pro Leu Arg
[1462]	405 410 415
[1463]	Ala Ala Val Thr Pro Ala Ala Gly Val Cys Ala Arg Glu Lys Pro Gln
[1464]	420 425 430
[1465]	Gly Ser Val Ala Ala Pro Glu Glu Glu Asp Thr Asp Pro Arg Arg Leu
[1466]	435 440 445
[1467]	Val Gln Leu Leu Arg Gln His Ser Ser Pro Trp Gln Val Tyr Gly Phe
[1468]	450 455 460
[1469]	Val Arg Ala Cys Leu Arg Arg Leu Val Pro Pro Gly Leu Trp Gly Ser
[1470]	465 470 475 480
[1471]	Arg His Asn Glu Arg Arg Phe Leu Arg Asn Thr Lys Lys Phe Ile Ser
[1472]	485 490 495
[1473]	Leu Gly Lys His Ala Lys Leu Ser Leu Gln Glu Leu Thr Trp Lys Met
[1474]	500 505 510
[1475]	Ser Val Arg Asp Cys Ala Trp Leu Arg Arg Ser Pro Gly Val Gly Cys
[1476]	515 520 525
[1477]	Val Pro Ala Ala Glu His Arg Leu Arg Glu Glu Ile Leu Ala Lys Phe
[1478]	530 535 540
[1479]	Leu His Trp Leu Met Ser Val Tyr Val Val Glu Leu Leu Arg Ser Phe
[1480]	545 550 555 560
[1481]	Phe Tyr Val Thr Glu Thr Thr Phe Gln Lys Asn Arg Leu Phe Phe Tyr

[1482]		565		570		575
[1483]	Arg Lys Ser Val Trp Ser Lys Leu Gln Ser Ile Gly Ile Arg Gln His					
[1484]		580		585		590
[1485]	Leu Lys Arg Val Gln Leu Arg Glu Leu Ser Glu Ala Glu Val Arg Gln					
[1486]		595		600		605
[1487]	His Arg Glu Ala Arg Pro Ala Leu Leu Thr Ser Arg Leu Arg Phe Ile					
[1488]		610		615		620
[1489]	Pro Lys Pro Asp Gly Leu Arg Pro Ile Val Asn Met Asp Tyr Val Val					
[1490]		625		630		640
[1491]	Gly Ala Arg Thr Phe Arg Arg Glu Lys Arg Ala Glu Arg Leu Thr Ser					
[1492]		645		650		655
[1493]	Arg Val Lys Ala Leu Phe Ser Val Leu Asn Tyr Glu Arg Ala Arg Arg					
[1494]		660		665		670
[1495]	Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Val Leu Gly Leu Asp Asp Ile His Arg					
[1496]		675		680		685
[1497]	Ala Trp Arg Thr Phe Val Leu Arg Val Arg Ala Gln Asp Pro Pro Pro					
[1498]		690		695		700
[1499]	Glu Leu Tyr Phe Val Lys Val Asp Val Thr Gly Ala Tyr Asp Thr Ile					
[1500]		705		710		720
[1501]	Pro Gln Asp Arg Leu Thr Glu Val Ile Ala Ser Ile Ile Lys Pro Gln					
[1502]		725		730		735
[1503]	Asn Thr Tyr Cys Val Arg Arg Tyr Ala Val Val Gln Lys Ala Ala His					
[1504]		740		745		750
[1505]	Gly His Val Arg Lys Ala Phe Lys Ser His Val Ser Thr Leu Thr Asp					
[1506]		755		760		765
[1507]	Leu Gln Pro Tyr Met Arg Gln Phe Val Ala His Leu Gln Glu Thr Ser					
[1508]		770		775		780
[1509]	Pro Leu Arg Asp Ala Val Val Ile Glu Gln Ser Ser Ser Leu Asn Glu					
[1510]		785		790		800
[1511]	Ala Ser Ser Gly Leu Phe Asp Val Phe Leu Arg Phe Met Cys His His					
[1512]		805		810		815
[1513]	Ala Val Arg Ile Arg Gly Lys Ser Tyr Val Gln Cys Gln Gly Ile Pro					
[1514]		820		825		830
[1515]	Gln Gly Ser Ile Leu Ser Thr Leu Leu Cys Ser Leu Cys Tyr Gly Asp					
[1516]		835		840		845
[1517]	Met Glu Asn Lys Leu Phe Ala Gly Ile Arg Arg Asp Gly Leu Leu Leu					
[1518]		850		855		860
[1519]	Arg Leu Val Asp Asp Phe Leu Leu Val Thr Pro His Leu Thr His Ala					
[1520]		865		870		880

[1521]	Lys Thr Phe Leu Arg Thr Leu Val Arg Gly Val Pro Glu Tyr Gly Cys
[1522]	885 890 895
[1523]	Val Val Asn Leu Arg Lys Thr Val Val Asn Phe Pro Val Glu Asp Glu
[1524]	900 905 910
[1525]	Ala Leu Gly Gly Thr Ala Phe Val Gln Met Pro Ala His Gly Leu Phe
[1526]	915 920 925
[1527]	Pro Trp Cys Gly Leu Leu Leu Asp Thr Arg Thr Leu Glu Val Gln Ser
[1528]	930 935 940
[1529]	Asp Tyr Ser Ser Tyr Ala Arg Thr Ser Ile Arg Ala Ser Leu Thr Phe
[1530]	945 950 955 960
[1531]	Asn Arg Gly Phe Lys Ala Gly Arg Asn Met Arg Arg Lys Leu Phe Gly
[1532]	965 970 975
[1533]	Val Leu Arg Leu Lys Cys His Ser Leu Phe Leu Asp Leu Gln Val Asn
[1534]	980 985 990
[1535]	Ser Leu Gln Thr Val Cys Thr Asn Ile Tyr Lys Ile Leu Leu Leu Gln
[1536]	995 1000 1005
[1537]	Ala Tyr Arg Phe His Ala Cys Val Leu Gln Leu Pro Phe His Gln Gln
[1538]	1010 1015 1020
[1539]	Val Trp Lys Asn Pro Thr Phe Phe Leu Arg Val Ile Ser Asp Thr Ala
[1540]	1025 1030 1035 1040
[1541]	Ser Leu Cys Tyr Ser Ile Leu Lys Ala Lys Asn Ala Gly Met Ser Leu
[1542]	1045 1050 1055
[1543]	Gly Ala Lys Gly Ala Ala Gly Pro Leu Pro Ser Glu Ala Val Gln Trp
[1544]	1060 1065 1070
[1545]	Leu Cys His Gln Ala Phe Leu Leu Lys Leu Thr Arg His Arg Val Thr
[1546]	1075 1080 1085
[1547]	Tyr Val Pro Leu Leu Gly Ser Leu Arg Thr Ala Gln Thr Gln Leu Ser
[1548]	1090 1095 1100
[1549]	Arg Lys Leu Pro Gly Thr Thr Leu Thr Ala Leu Glu Ala Ala Ala Asn
[1550]	1105 1110 1115 1120
[1551]	Pro Ala Leu Pro Ser Asp Phe Lys Thr Ile Leu Asp
[1552]	1125 1130
[1553]	<210> 180
[1554]	<211> 48
[1555]	<212> DNA
[1556]	<213> Homo sapiens
[1557]	<400> 180
[1558]	gaagcgcgcc cggcgctgct gaccagccgc ctgcgcttta ttccgaaa 48
[1559]	<210> 181

[1560] <211> 21
 [1561] <212> RNA
 [1562] <213> Artificial Sequence
 [1563] <220>
 [1564] <223> siRNA sense
 [1565] <220>
 [1566] <221> variation
 [1567] <222> (20)..(21)
 [1568] <223> n is deoxythymidine (dT)
 [1569] <400> 181
 [1570] cuuacgcuga guacuucgan n 21
 [1571] <210> 182
 [1572] <211> 21
 [1573] <212> RNA
 [1574] <213> Artificial Sequence
 [1575] <220>
 [1576] <223> siRNA antisense
 [1577] <220>
 [1578] <221> variation
 [1579] <222> (20)..(21)
 [1580] <223> n is deoxythymidine (dT)
 [1581] <400> 182
 [1582] ucgaaguacu cagcguaagn n 21
 [1583] <210> 183
 [1584] <211> 239
 [1585] <212> PRT
 [1586] <213> Artificial Sequence
 [1587] <220>
 [1588] <223> Green Fluorescent Protein
 [1589] <400> 183
 [1590] Met Val Ser Lys Gly Glu Glu Leu Phe Thr Gly Val Val Pro Ile Leu
 [1591] 1 5 10 15
 [1592] Val Glu Leu Asp Gly Asp Val Asn Gly His Lys Phe Ser Val Ser Gly
 [1593] 20 25 30
 [1594] Glu Gly Glu Gly Asp Ala Thr Tyr Gly Lys Leu Thr Leu Lys Phe Ile
 [1595] 35 40 45
 [1596] Cys Thr Thr Gly Lys Leu Pro Val Pro Trp Pro Thr Leu Val Thr Thr
 [1597] 50 55 60
 [1598] Leu Thr Tyr Gly Val Gln Cys Phe Ser Arg Tyr Pro Asp His Met Lys

[1599]	65	70	75	80
[1600]	Gln His Asp Phe Phe Lys Ser Ala Met Pro Glu Gly Tyr Val Gln Glu			
[1601]		85	90	95
[1602]	Arg Thr Ile Phe Phe Lys Asp Asp Gly Asn Tyr Lys Thr Arg Ala Glu			
[1603]		100	105	110
[1604]	Val Lys Phe Glu Gly Asp Thr Leu Val Asn Arg Ile Glu Leu Lys Gly			
[1605]		115	120	125
[1606]	Ile Asp Phe Lys Glu Asp Gly Asn Ile Leu Gly His Lys Leu Glu Tyr			
[1607]		130	135	140
[1608]	Asn Tyr Asn Ser His Asn Val Tyr Ile Met Ala Asp Lys Gln Lys Asn			
[1609]		145	150	155
[1610]	Gly Ile Lys Val Asn Phe Lys Ile Arg His Asn Ile Glu Asp Gly Ser			
[1611]		165	170	175
[1612]	Val Gln Leu Ala Asp His Tyr Gln Gln Asn Thr Pro Ile Gly Asp Gly			
[1613]		180	185	190
[1614]	Pro Val Leu Leu Pro Asp Asn His Tyr Leu Ser Thr Gln Ser Ala Leu			
[1615]		195	200	205
[1616]	Ser Lys Asp Pro Asn Glu Lys Arg Asp His Met Val Leu Leu Glu Phe			
[1617]		210	215	220
[1618]	Val Thr Ala Ala Gly Ile Thr Leu Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys			
[1619]		225	230	235
[1620]	<210> 184			
[1621]	<211> 720			
[1622]	<212> DNA			
[1623]	<213> Artificial Sequence			
[1624]	<220>			
[1625]	<223> Green Fluorescent Protein			
[1626]	<400> 184			
[1627]	atggtgagca agggcgagga gctgttcacc ggggtggtgc ccatcctggt cgagctggac 60			
[1628]	ggcgacgtaa acggccacaa gttcagcgtg tccggcgagg gcgagggcga tgccacctac 120			
[1629]	ggcaagctga cctgaagtt catctgcacc accggcaagc tgcccgtgcc ctggcccacc 180			
[1630]	ctcgtgacca cctgacctc cggcgtgcag tgcttcagcc gctaccccga ccacatgaag 240			
[1631]	cagcacgact tcttcaagtc cgccatgccc gaaggctacg tccaggagcg caccatcttc 300			
[1632]	ttcaaggacg acggcaacta caagaccgc gccgaggtga agttcgaggg cgacaccctg 360			
[1633]	gtgaaccgca tegagctgaa gggcatcgac ttcaaggagg acggcaacat cctggggcac 420			
[1634]	aagctggagt acaactacaa cagccacaaac gtctatatca tggccgacaa gcagaagaac 480			
[1635]	ggcatcaagg tgaacttcaa gatccgccac aacatcgagg acggcagcgt gcagctcgcc 540			
[1636]	gaccactacc agcagaacac ccccatcggc gacggccccg tgctgctgcc cgacaaccac 600			
[1637]	tacctgagca cccagtcgcg cctgagcaaa gaccccaacg agaagcgcga tcacatggtc 660			

[1638] ctgctggagt tcgtgaccgc cgccgggatc actctcggca tggacgagct gtacaagtaa 720
[1639] 720
[1640] <210> 185
[1641] <211> 21
[1642] <212> RNA
[1643] <213> Artificial Sequence
[1644] <220>
[1645] <223> siCont sense
[1646] <220>
[1647] <221> variation
[1648] <222> (20)..(21)
[1649] <223> n is deoxythymidine (dT)
[1650] <400> 185
[1651] gcaccuauaa caacgguagn n 21
[1652] <210> 186
[1653] <211> 21
[1654] <212> RNA
[1655] <213> Artificial Sequence
[1656] <220>
[1657] <223> siCont antisense
[1658] <220>
[1659] <221> variation
[1660] <222> (20)..(21)
[1661] <223> n is deoxythymidine (dT)
[1662] <400> 186
[1663] cuaccguugu uauaggugcn n 21

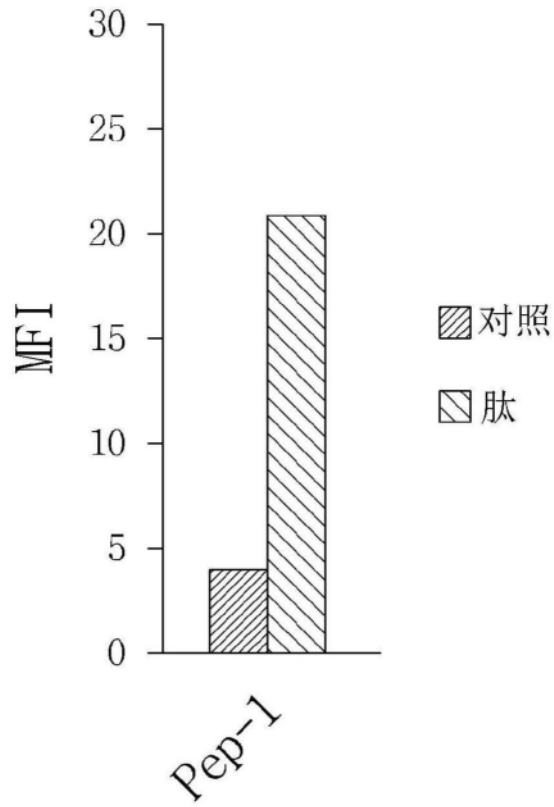


图1

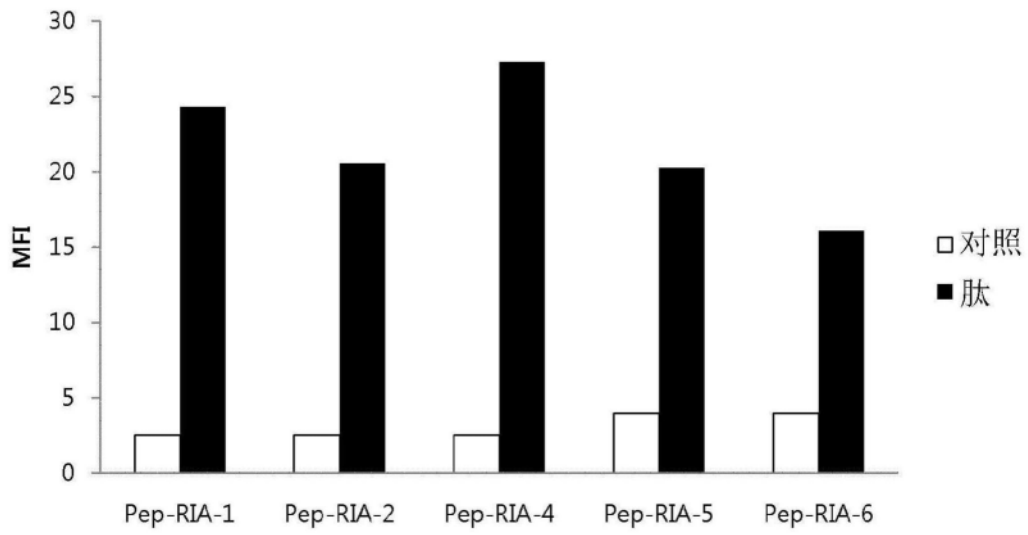


图2

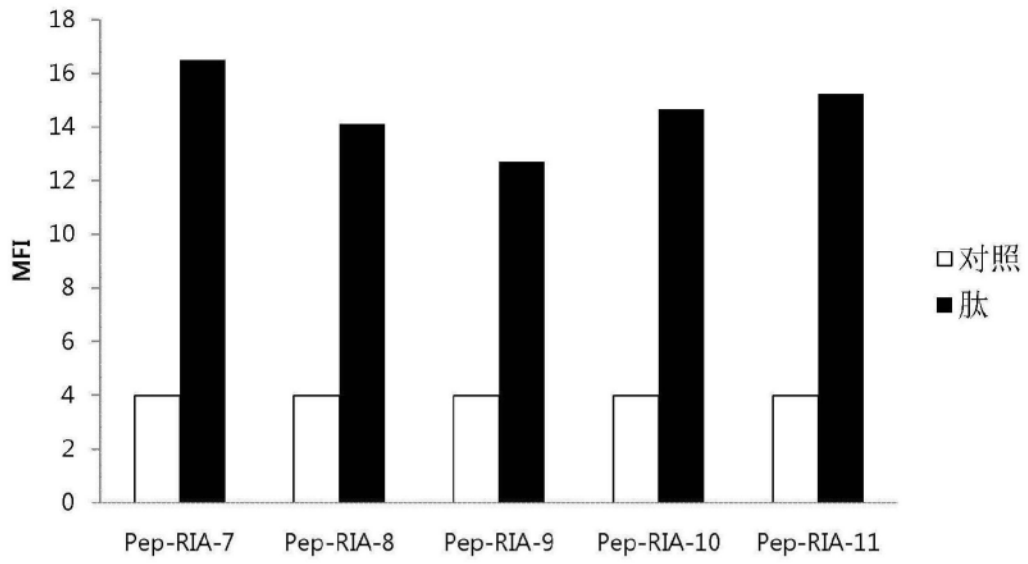


图3

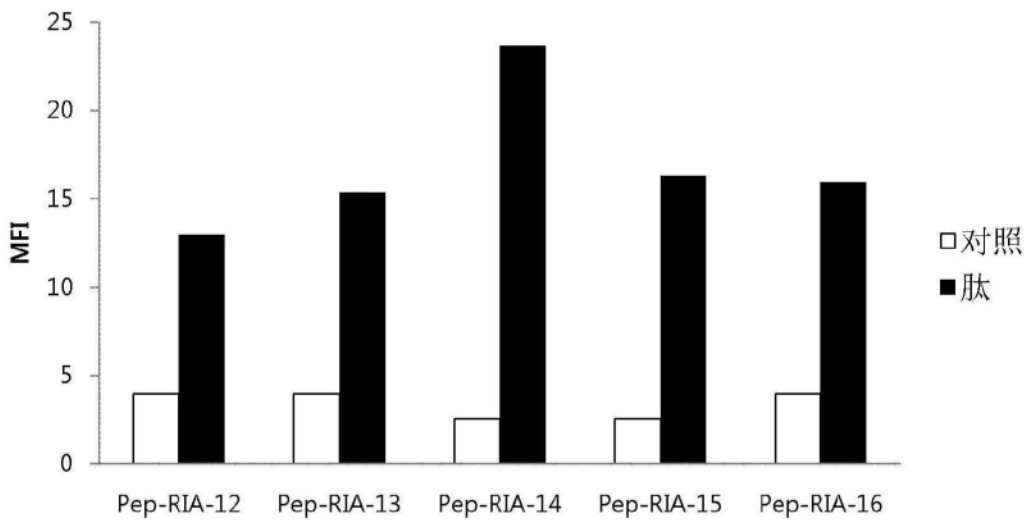


图4

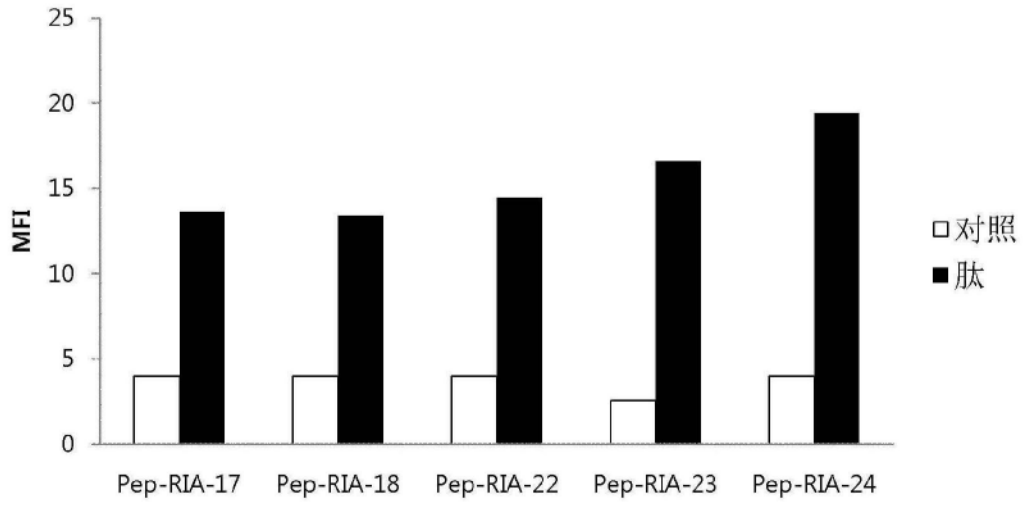


图5

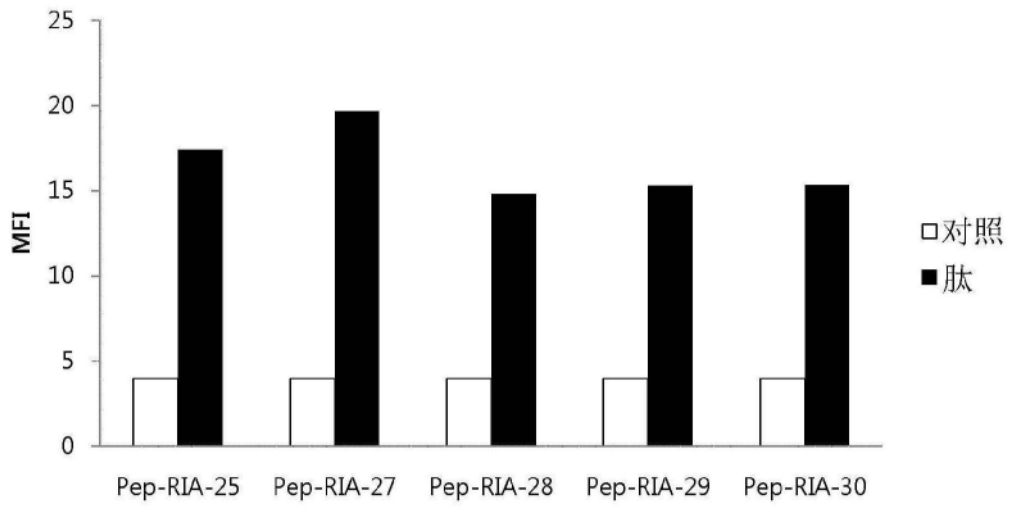


图6

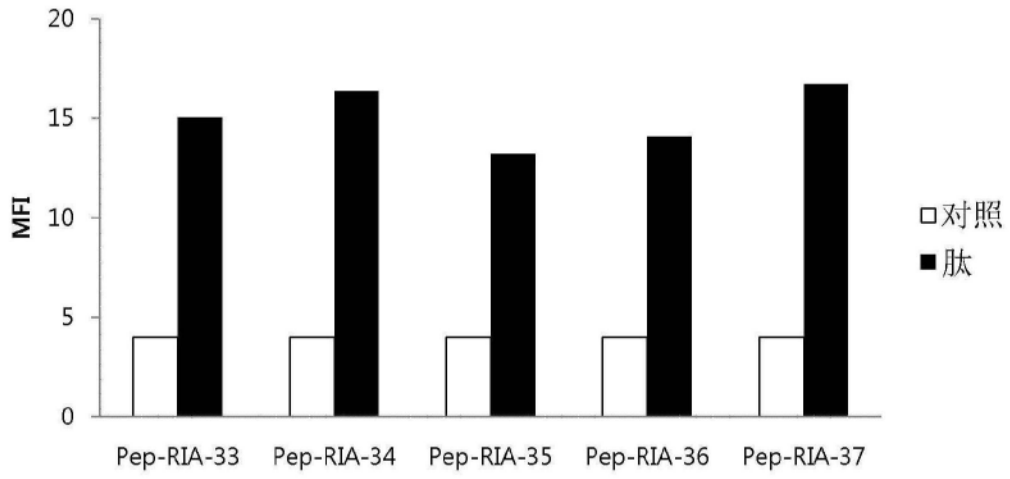


图7

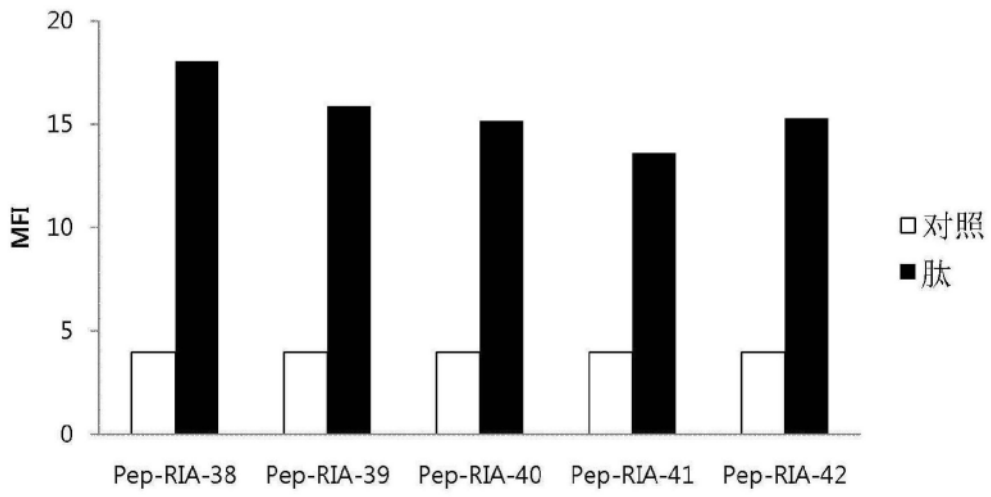


图8

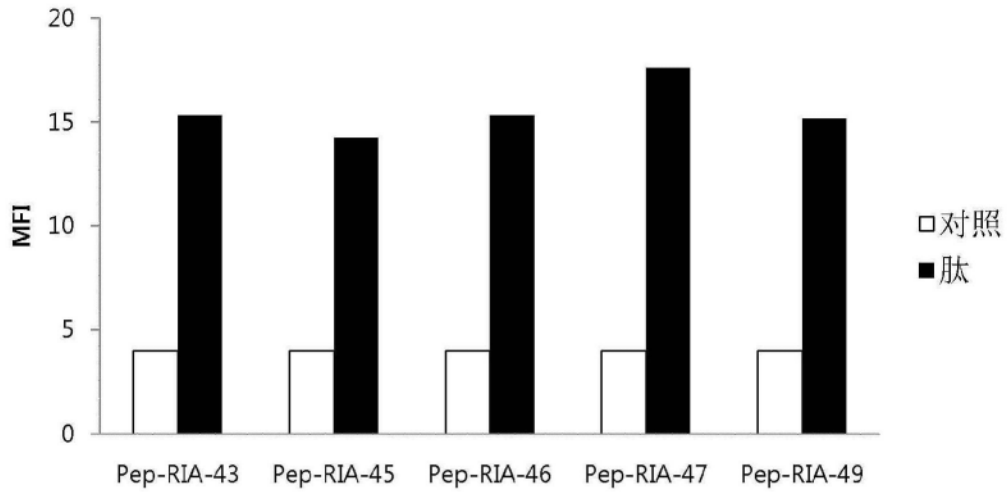


图9

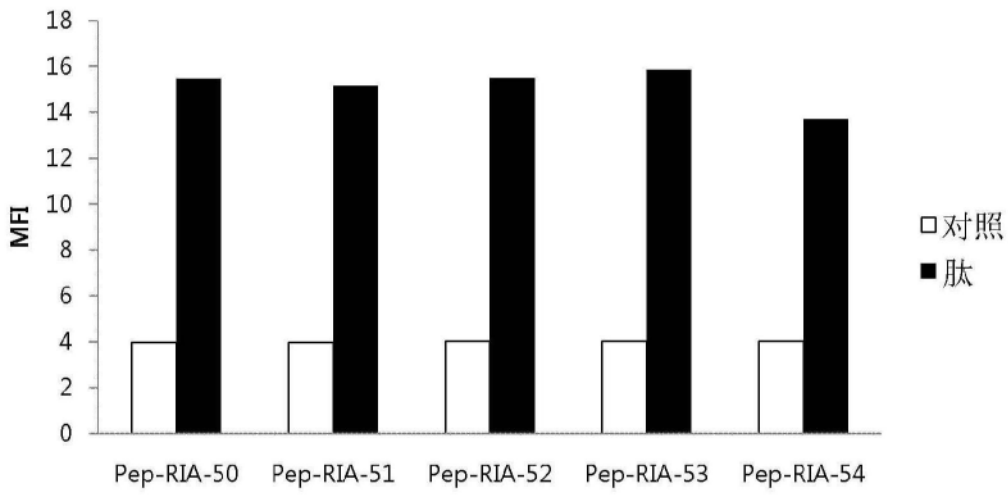


图10

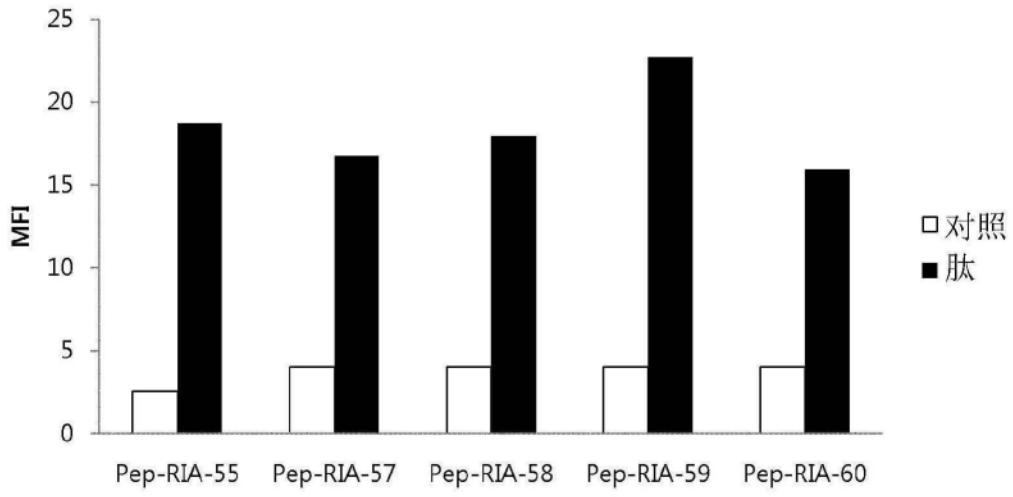


图11

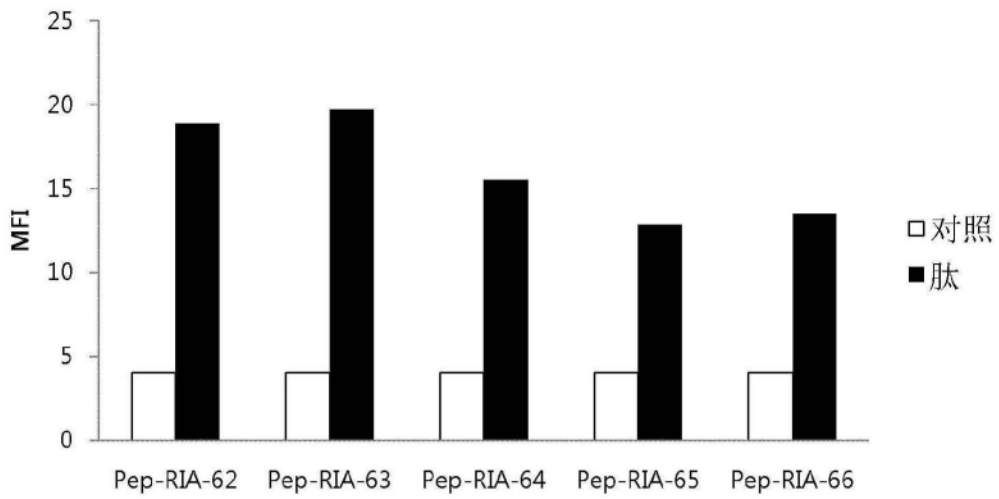


图12

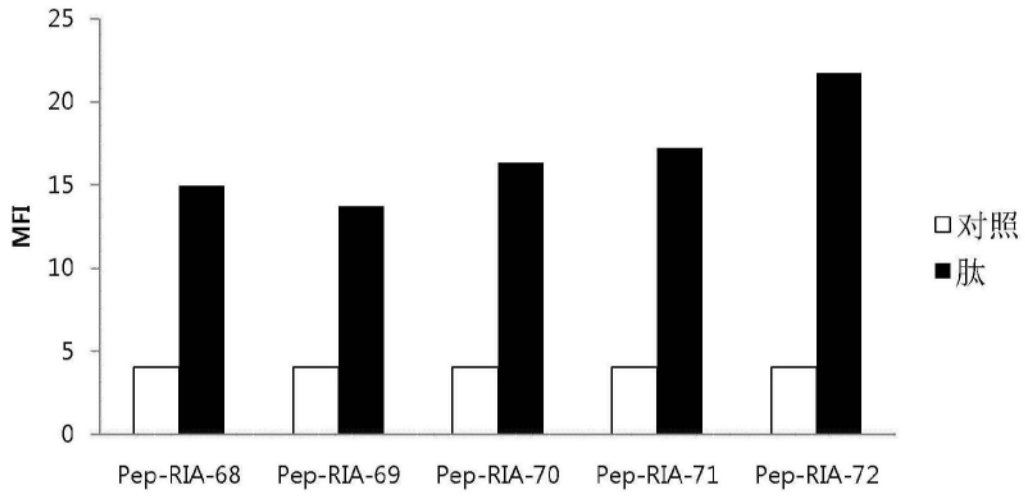


图13

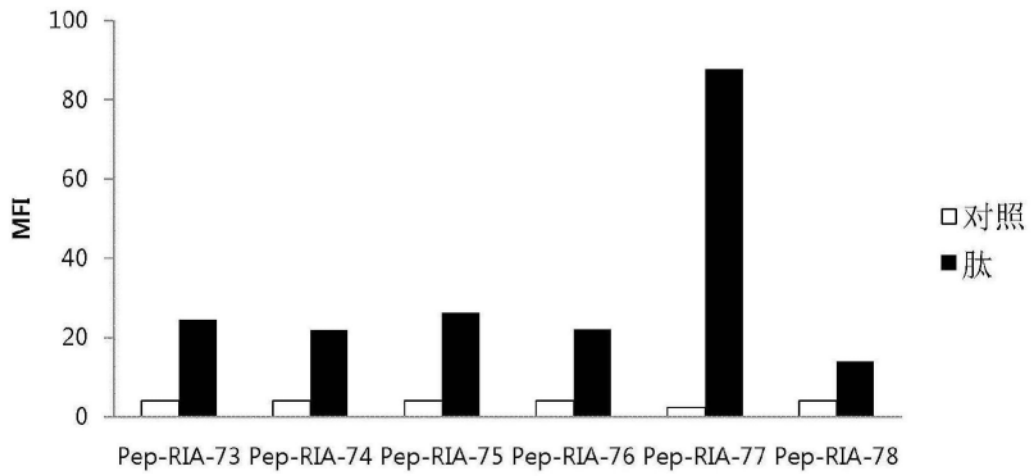


图14

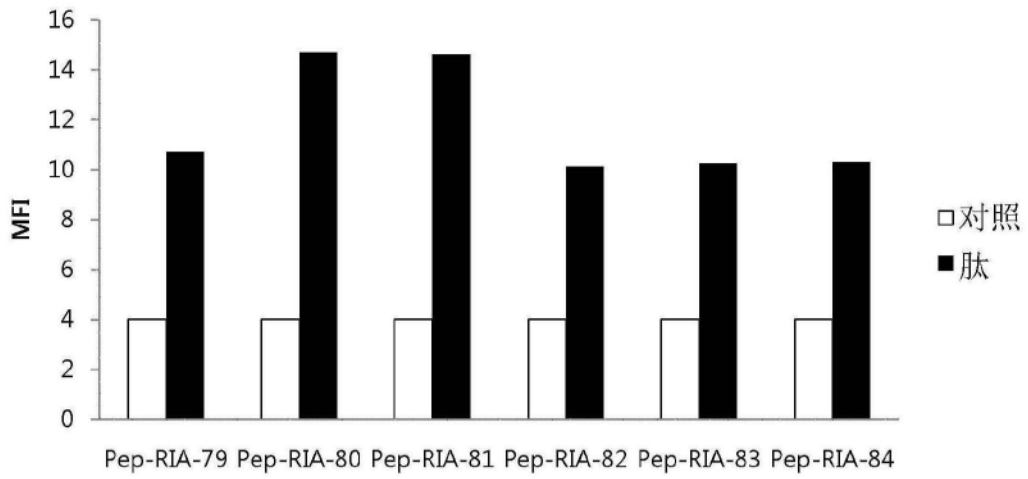


图15

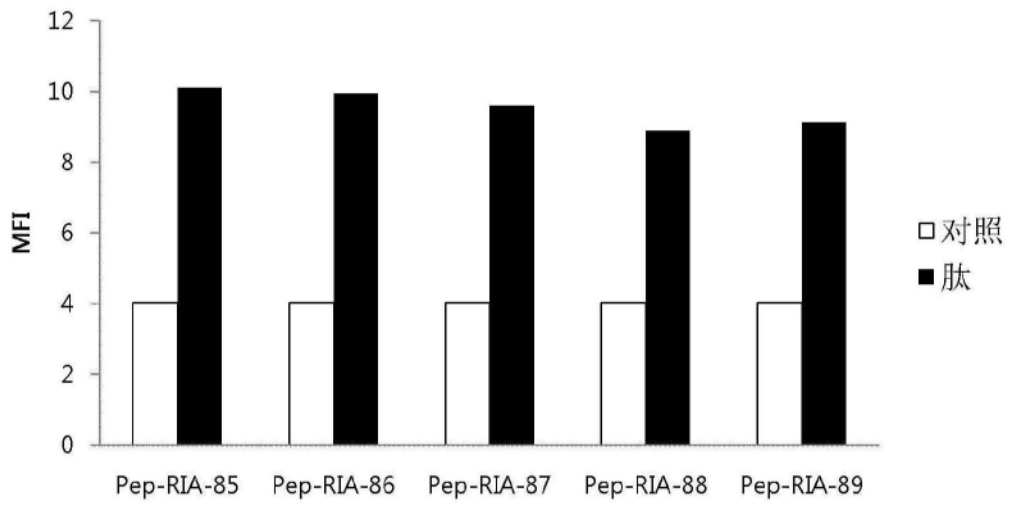


图16

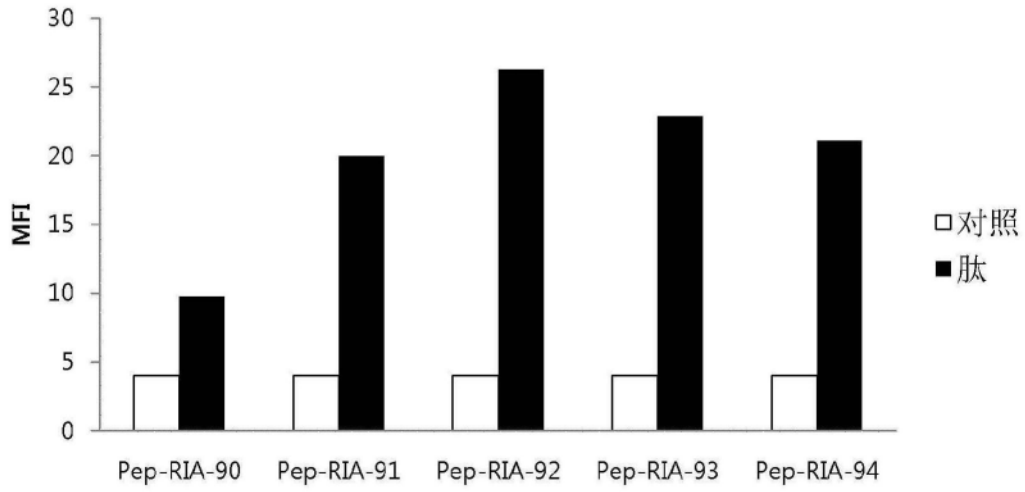


图17

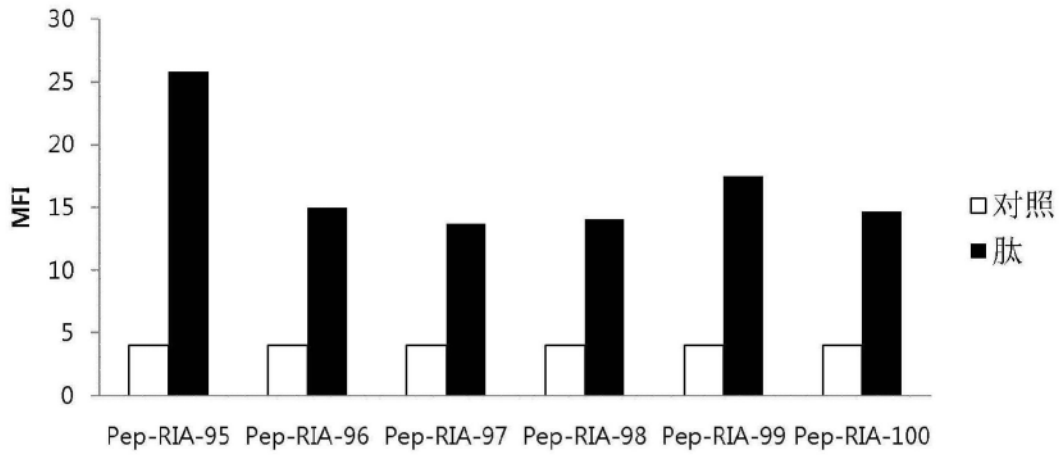


图18

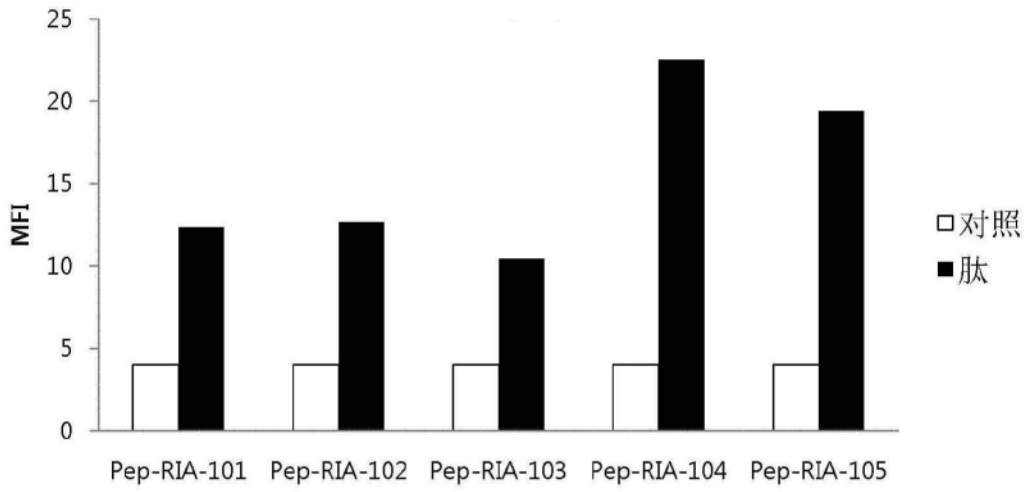


图19

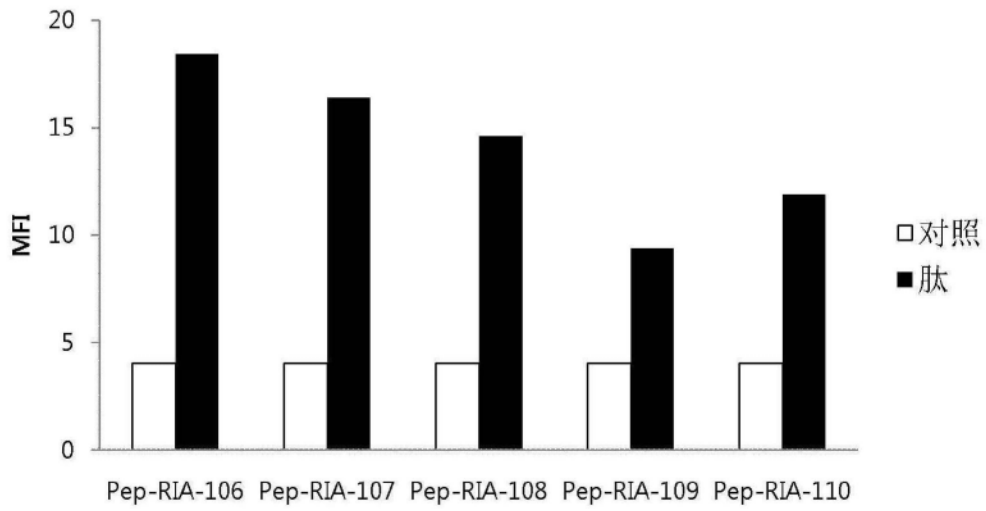


图20

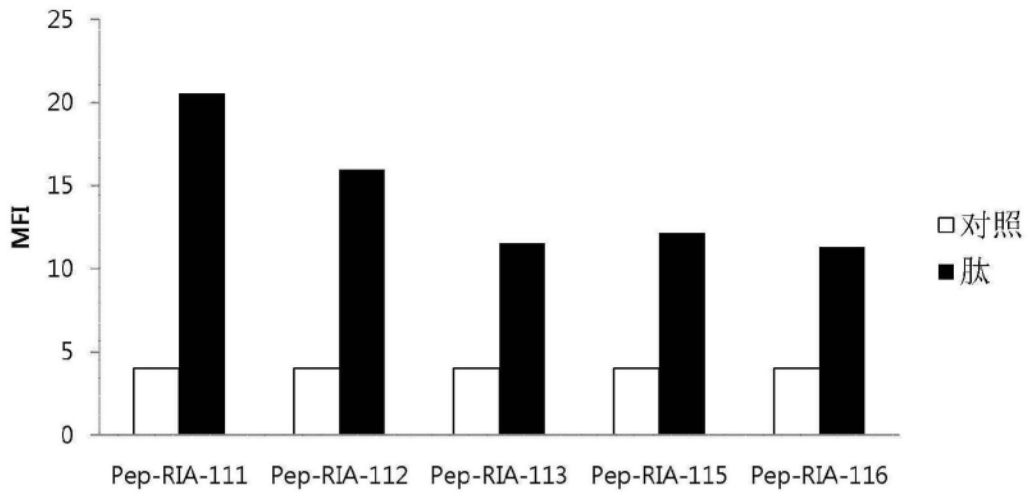


图21

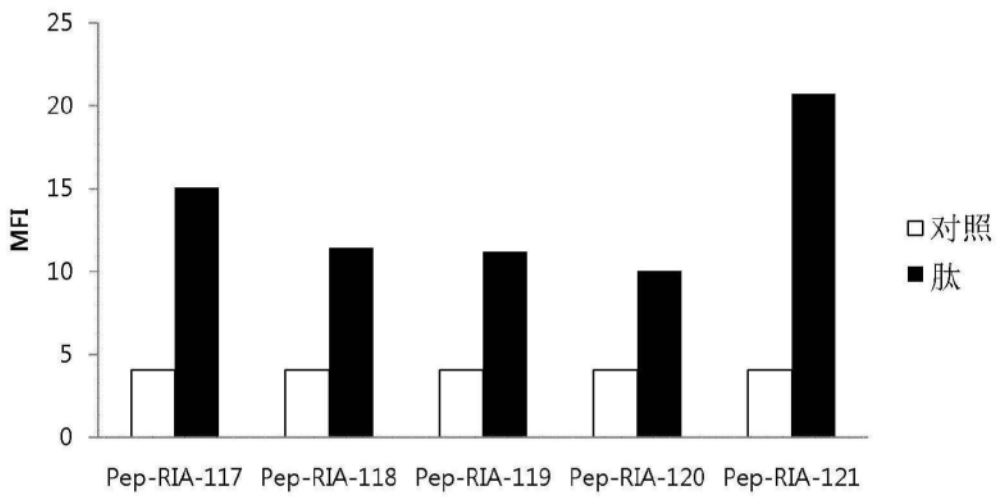


图22

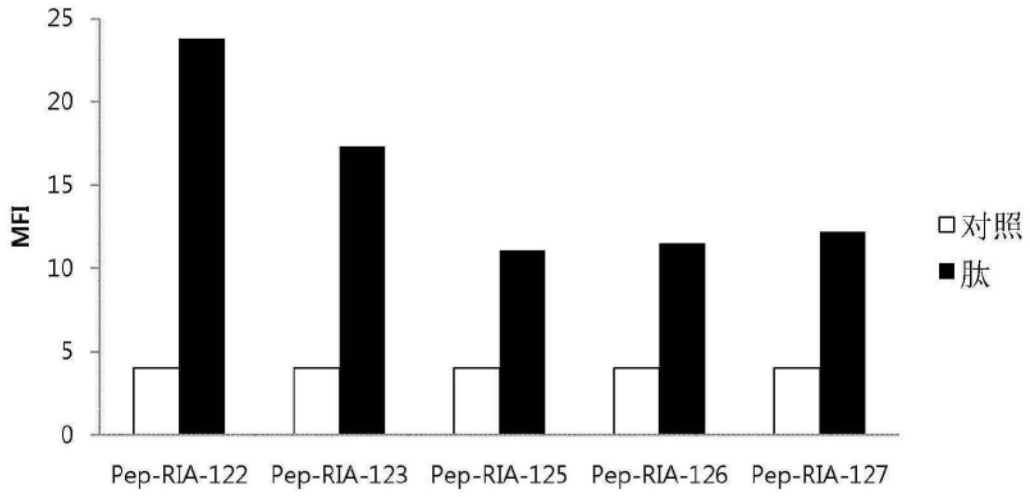


图23

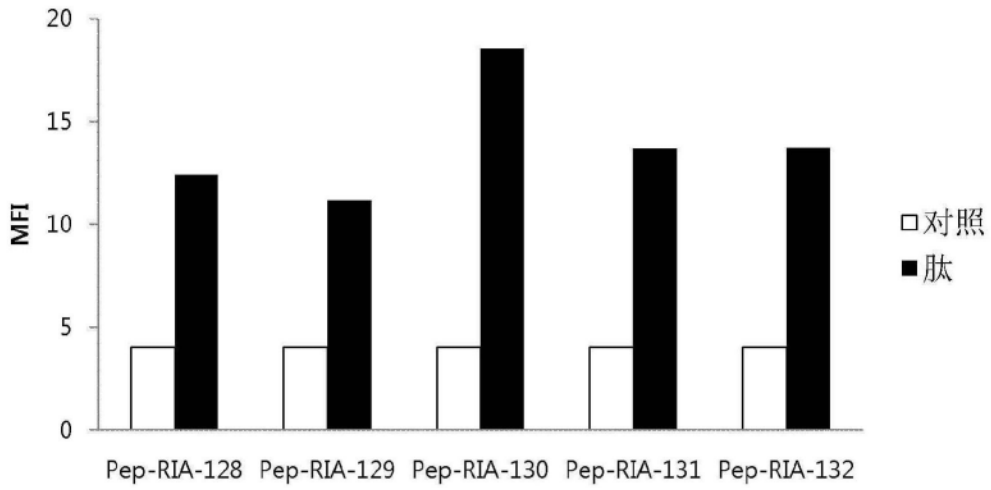


图24

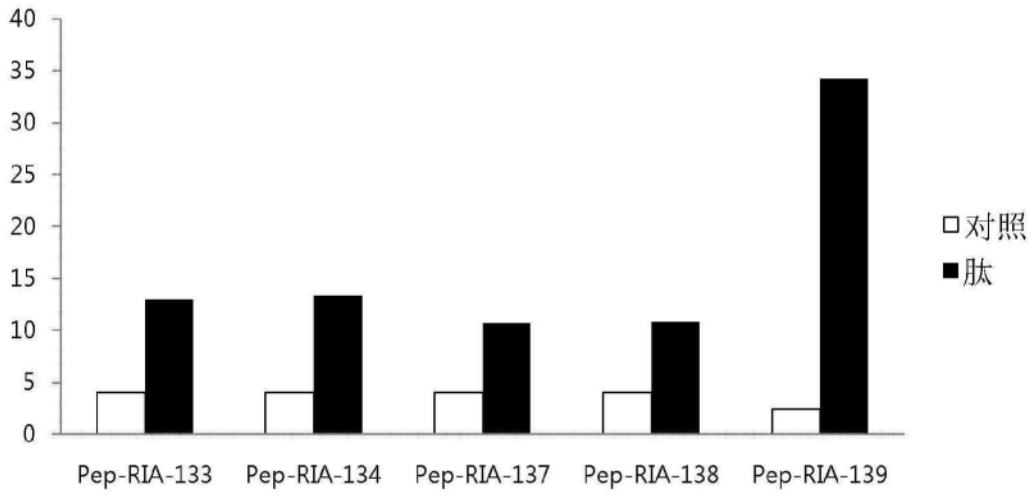


图25

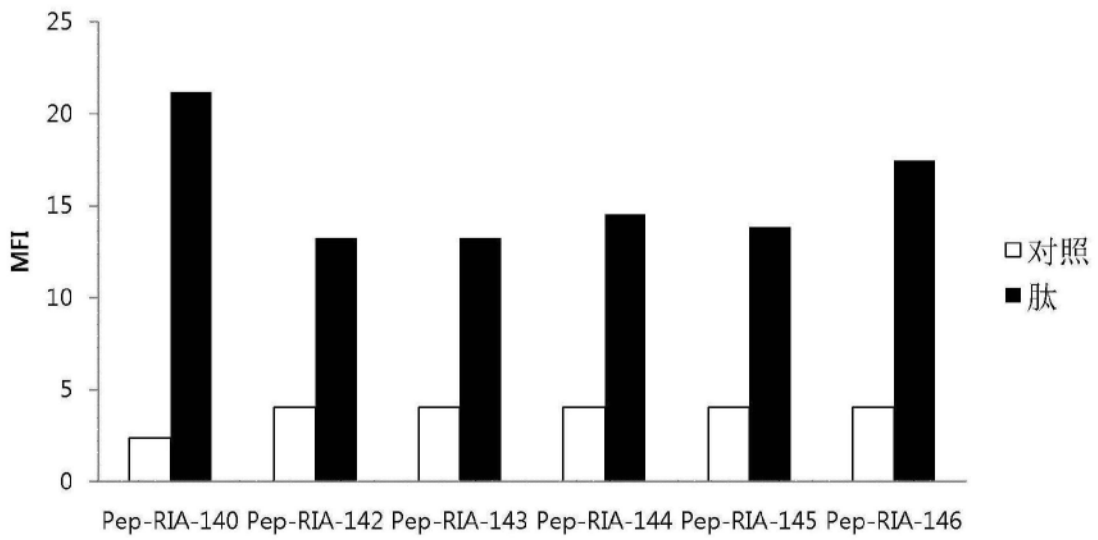


图26

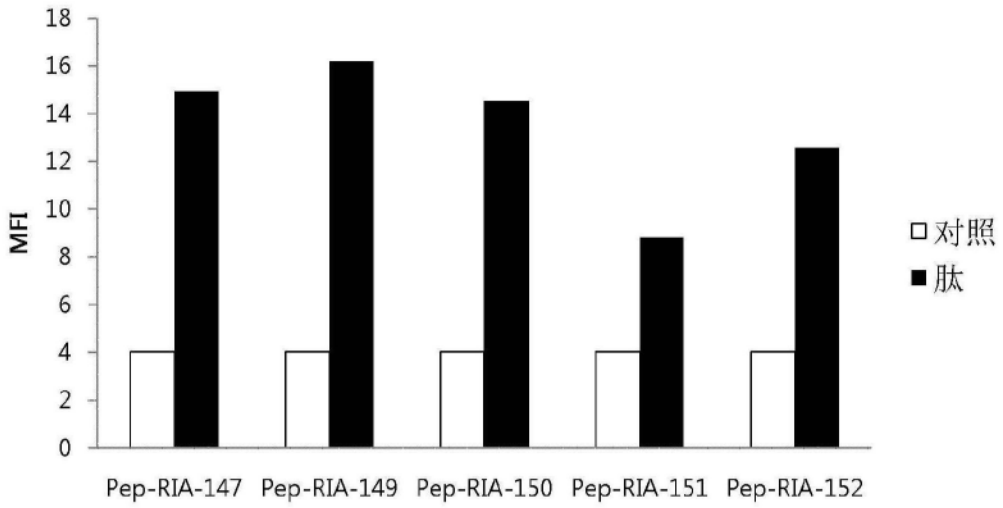


图27

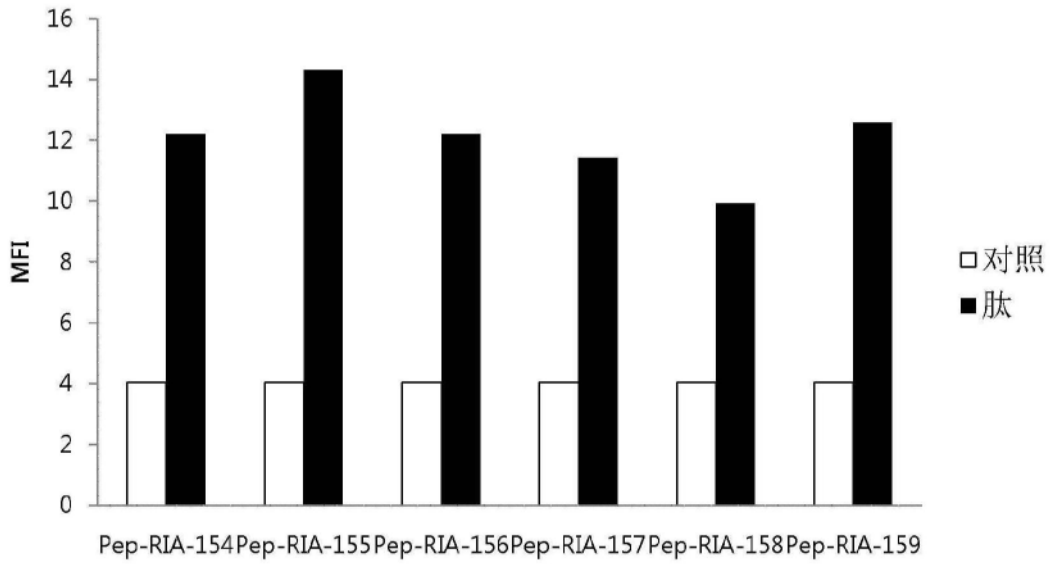


图28

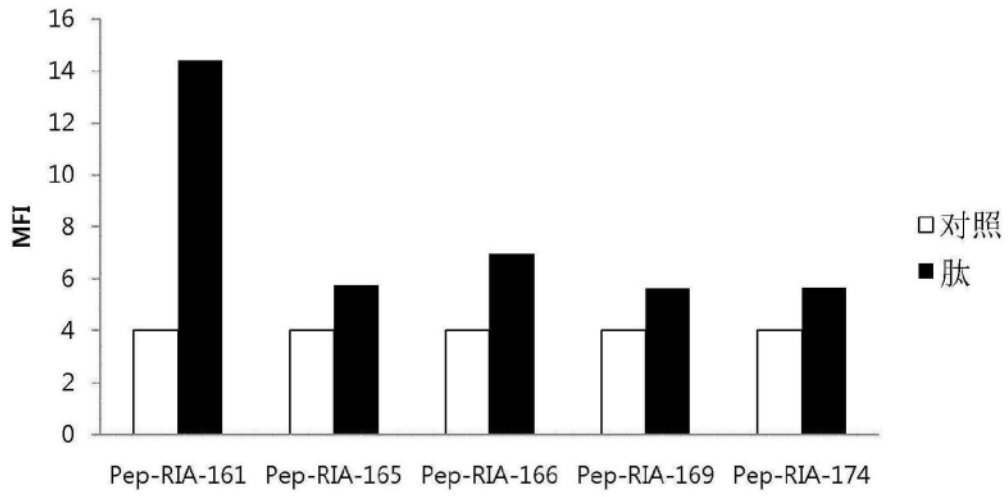


图29

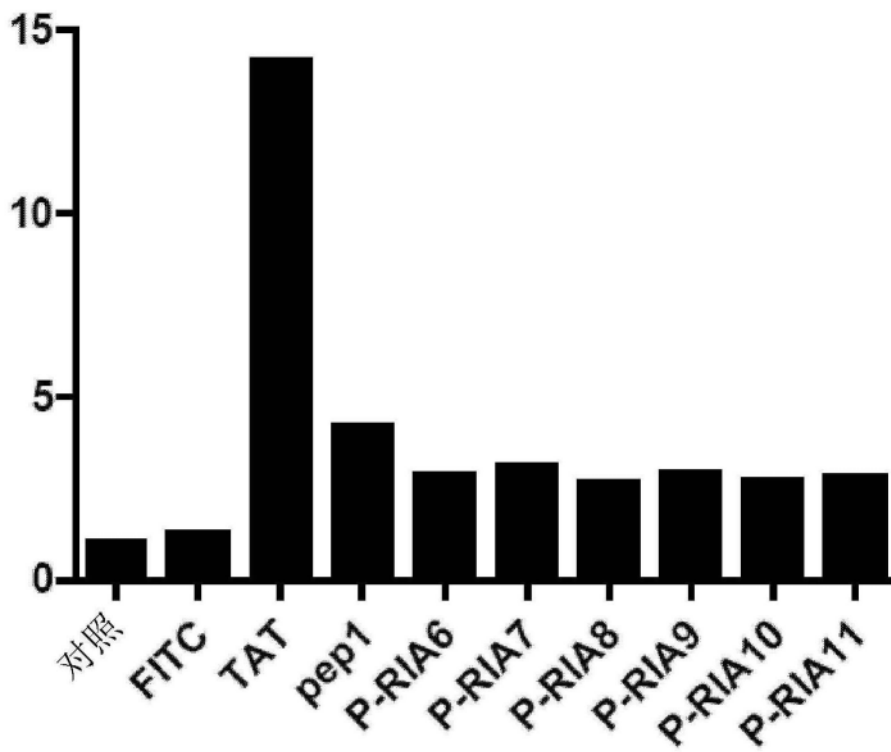


图30

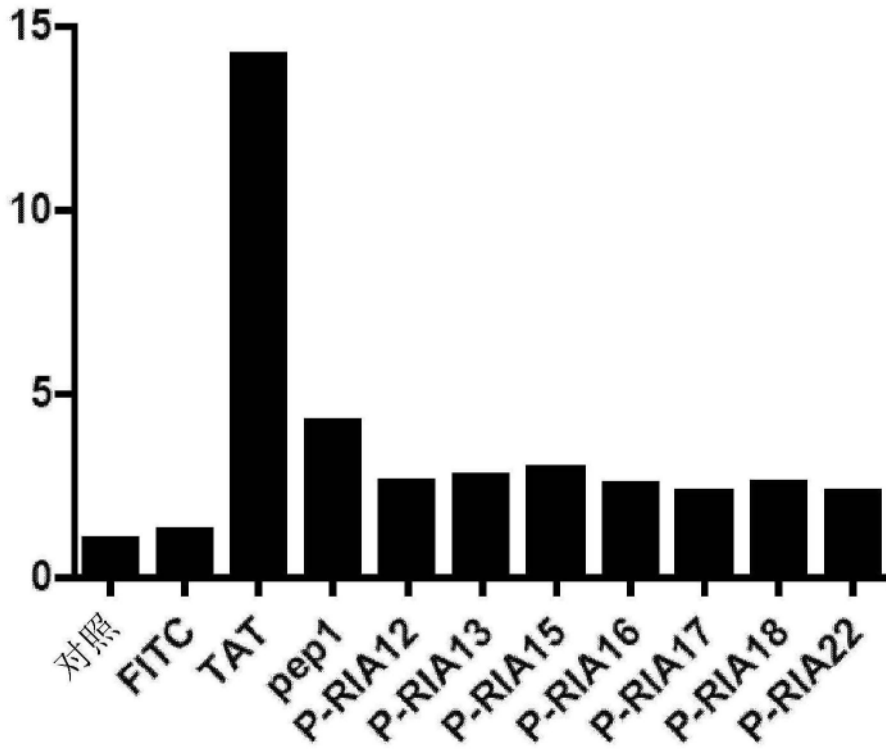


图31

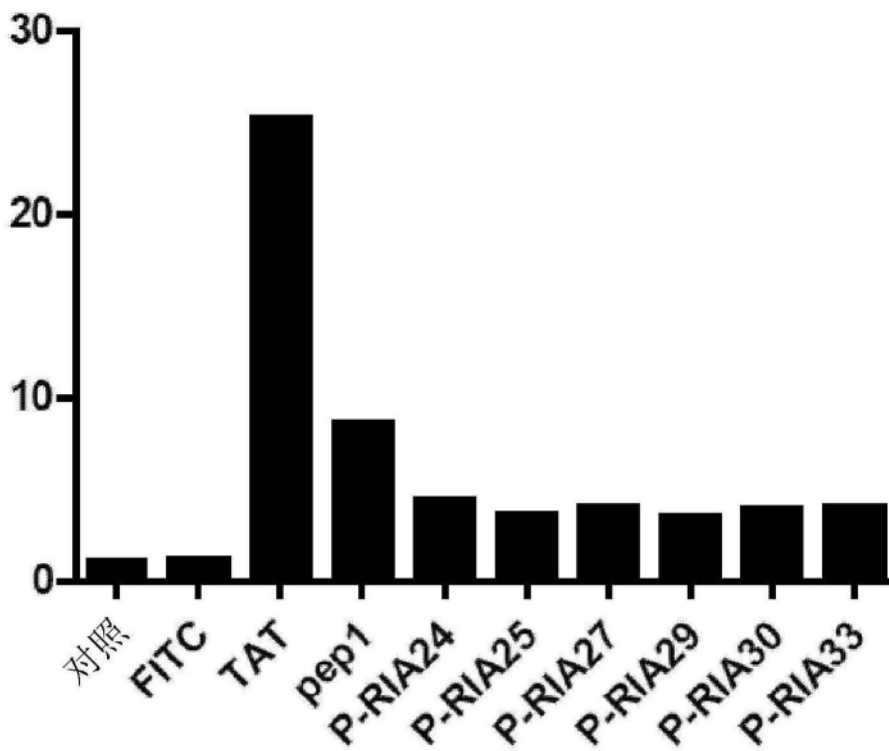


图32

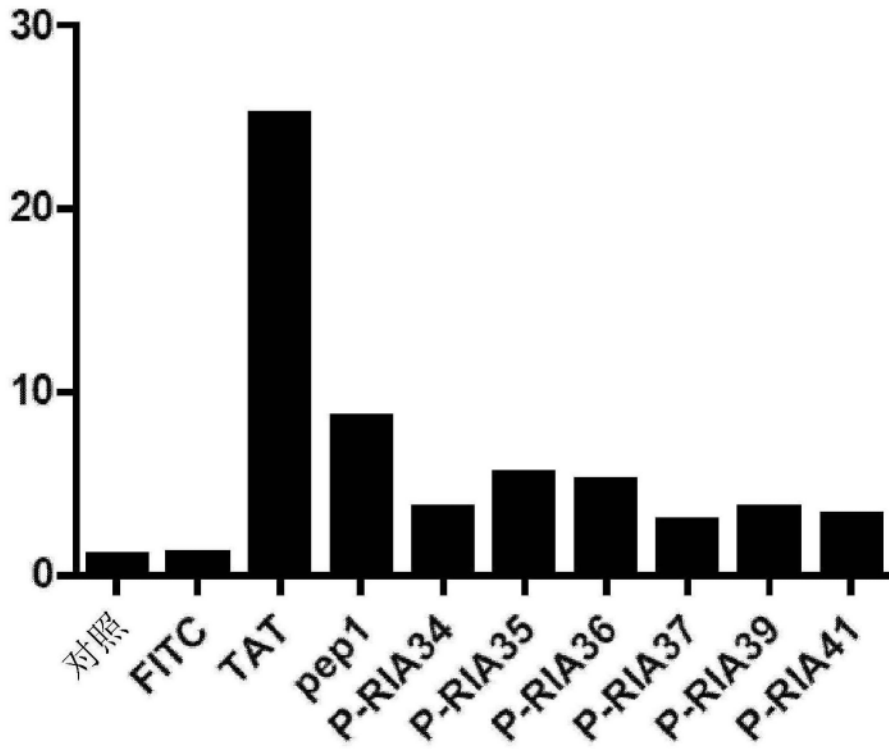


图33

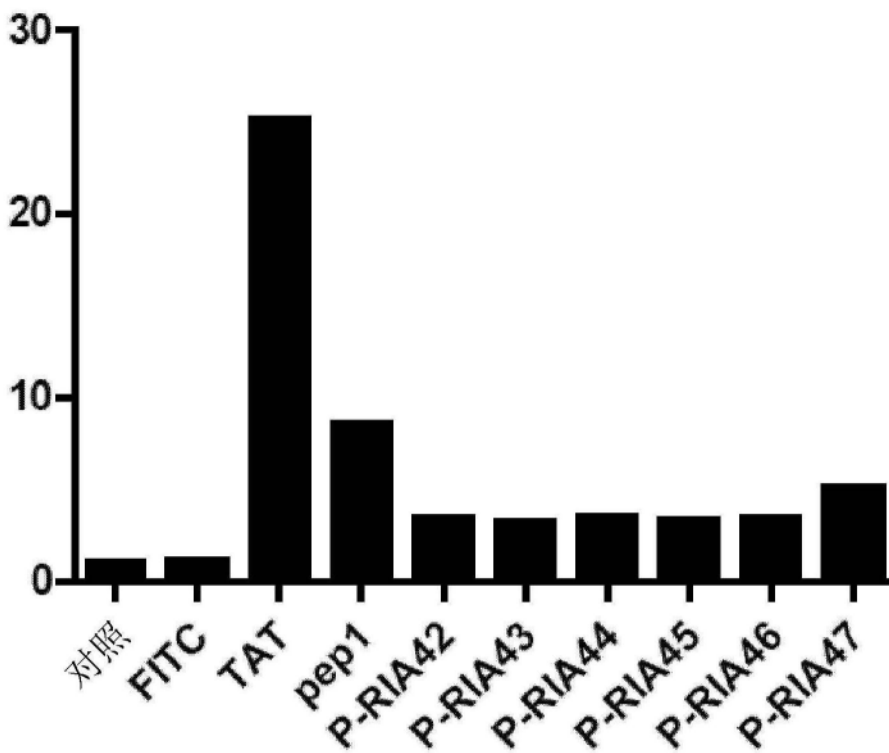


图34

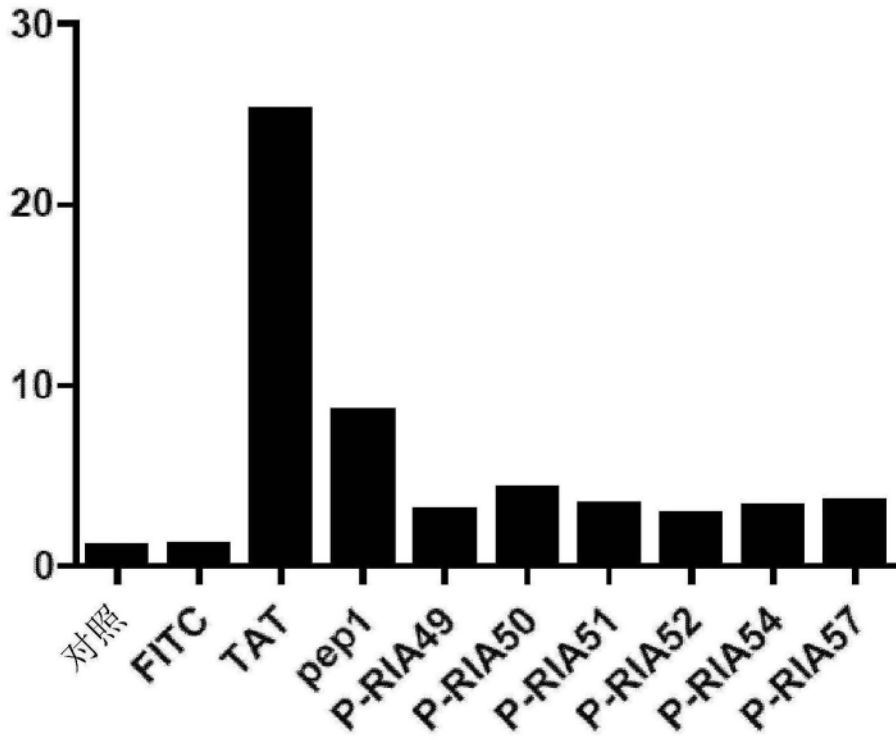


图35

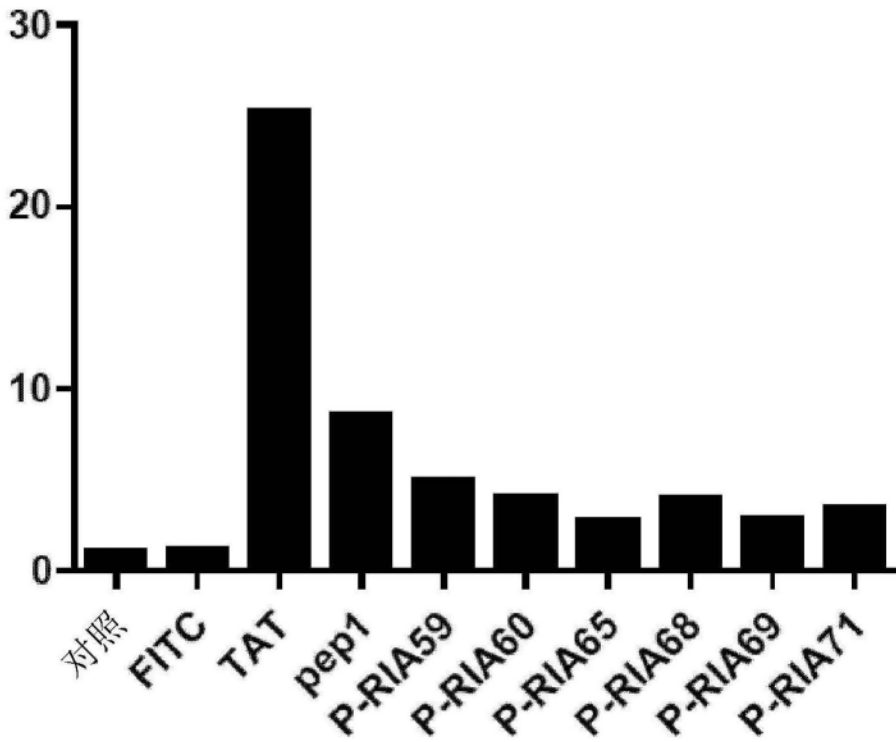


图36

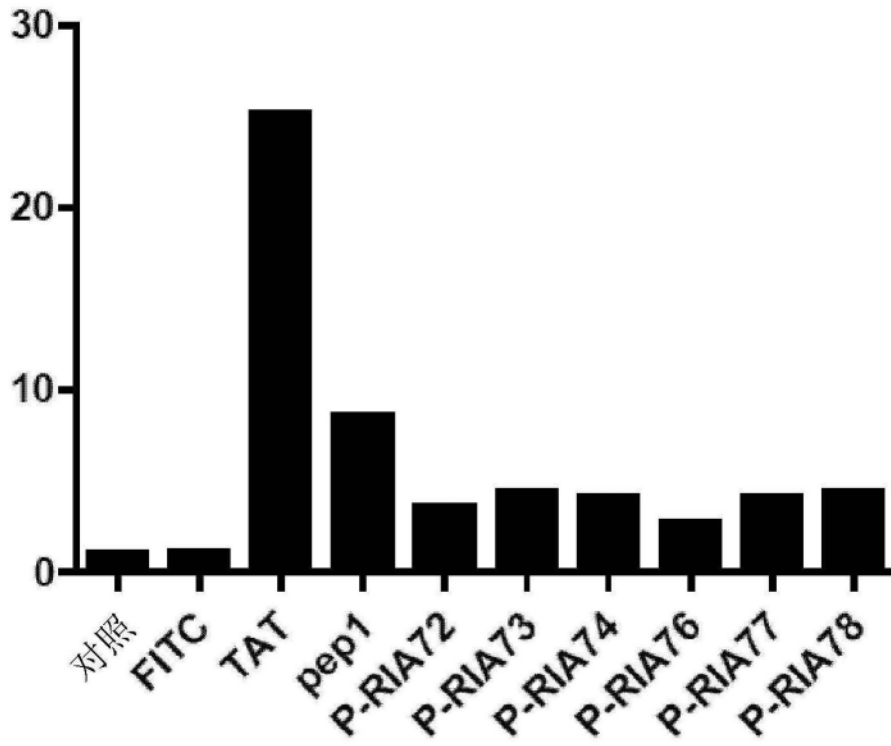


图37

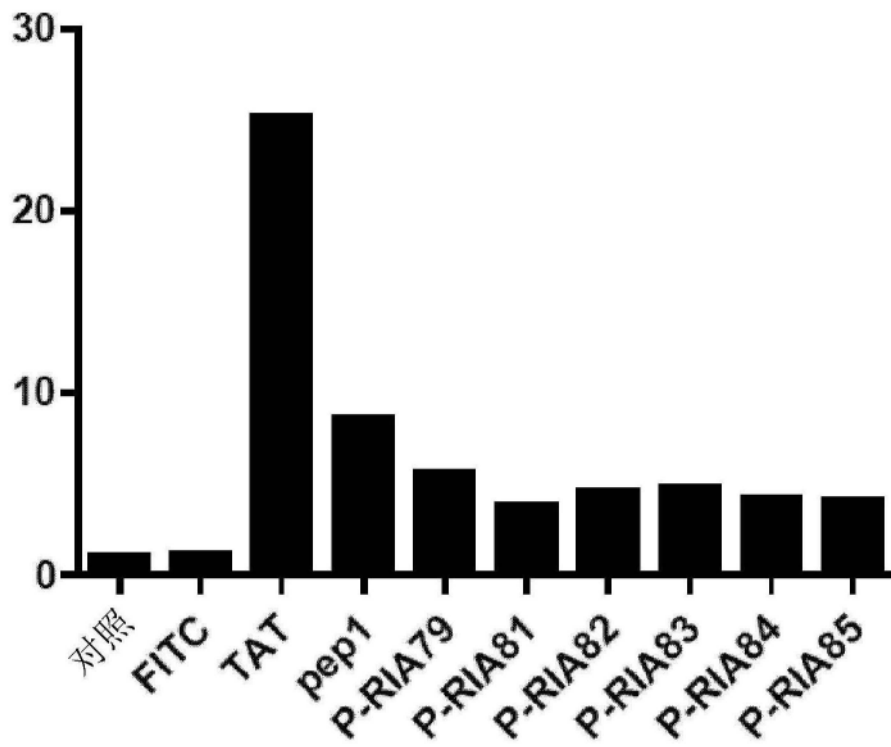


图38

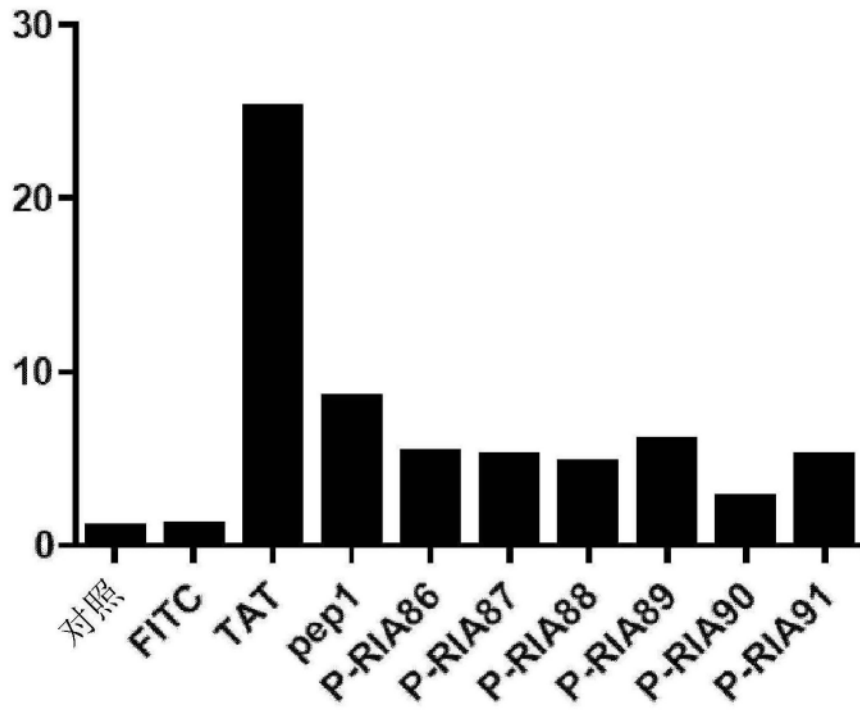


图39

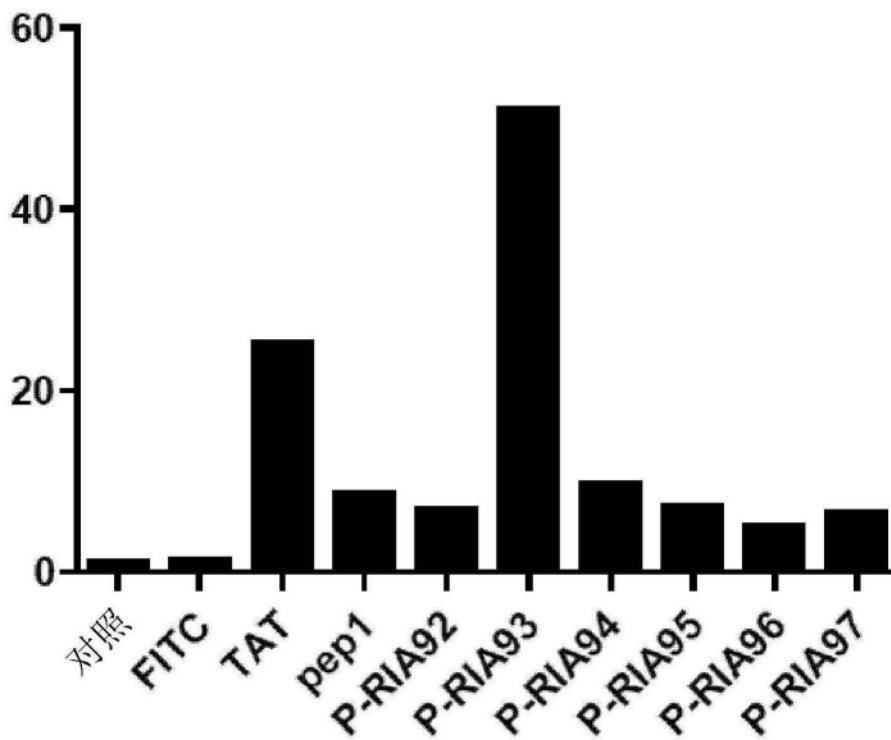


图40

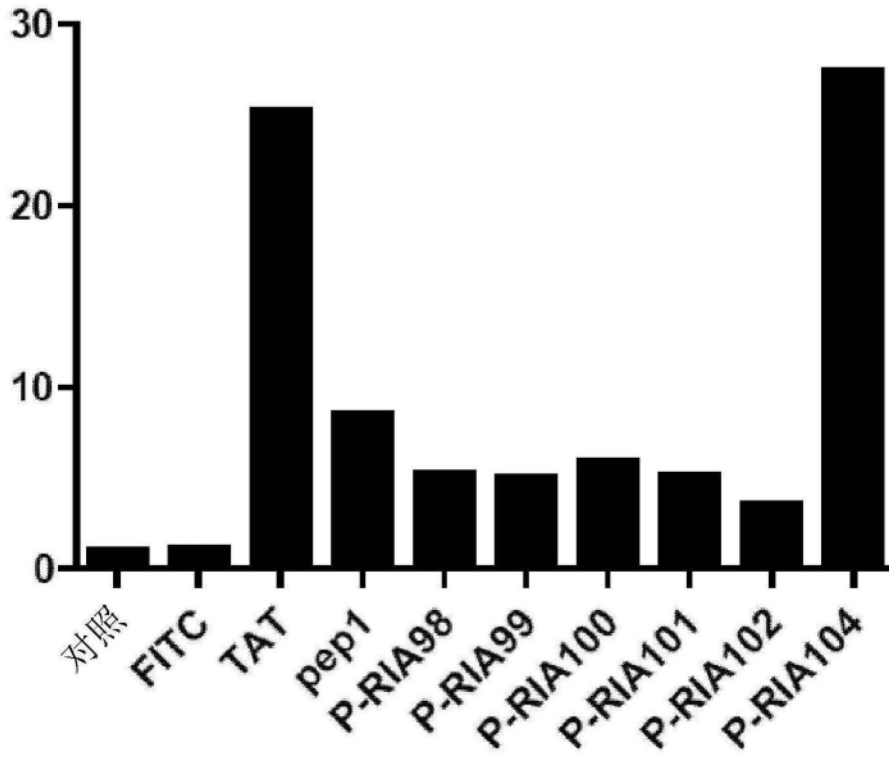


图41

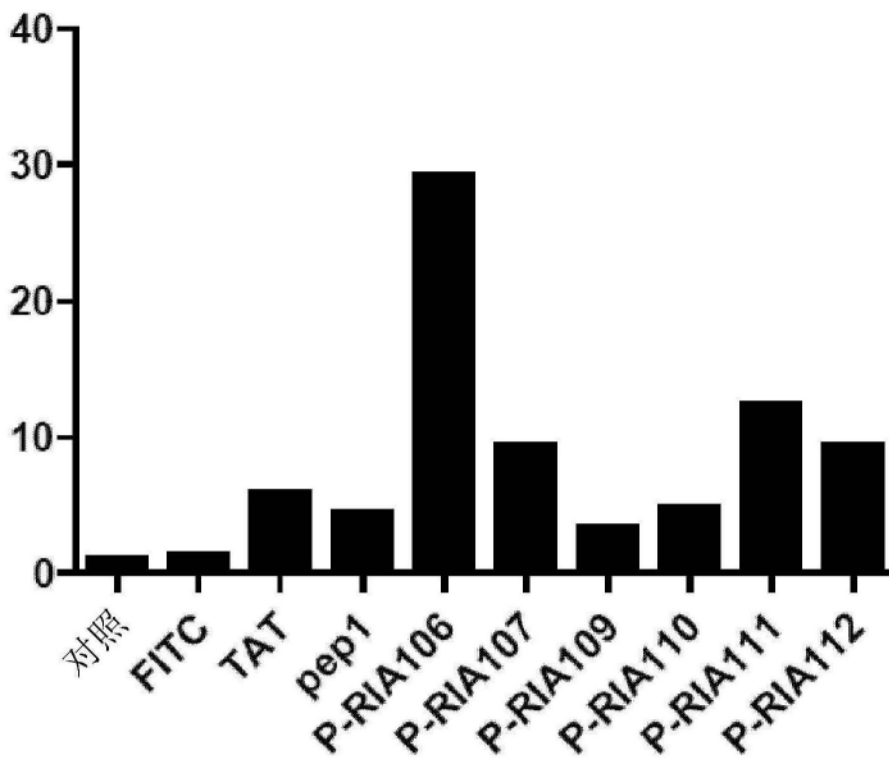


图42

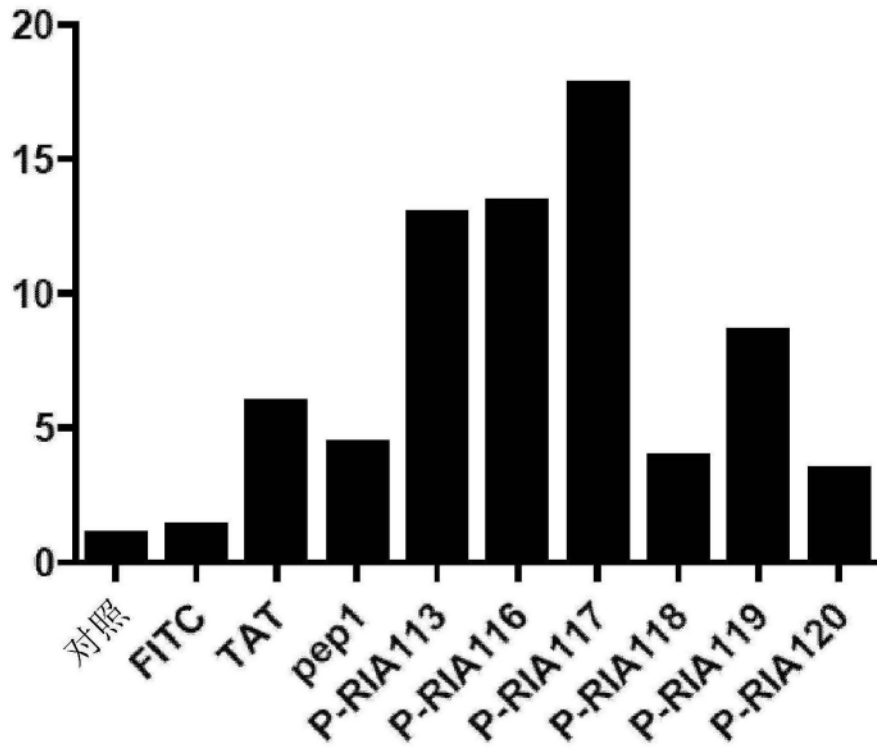


图43

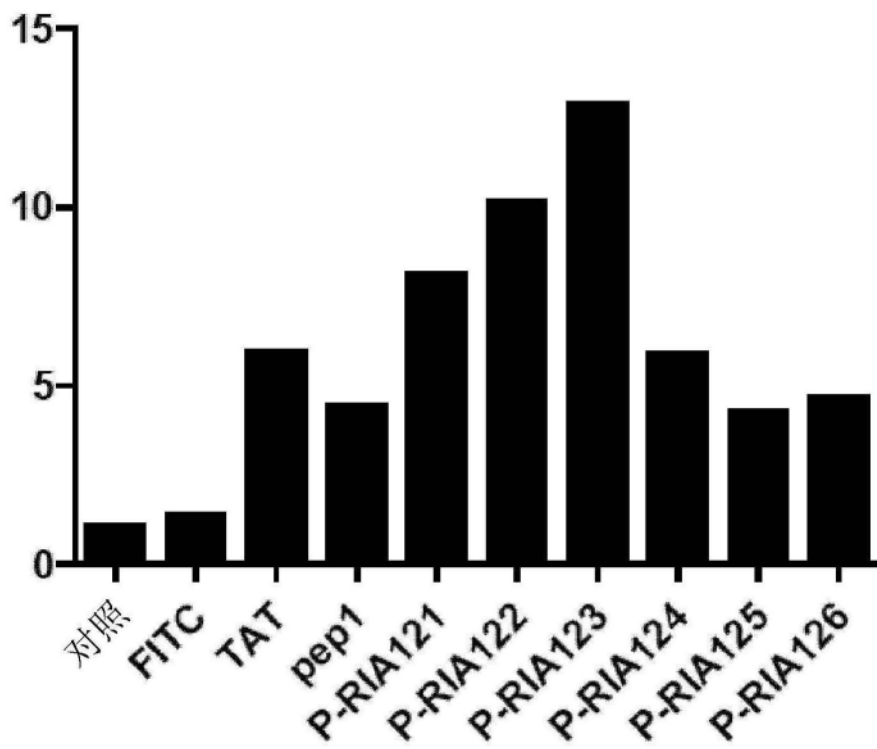


图44

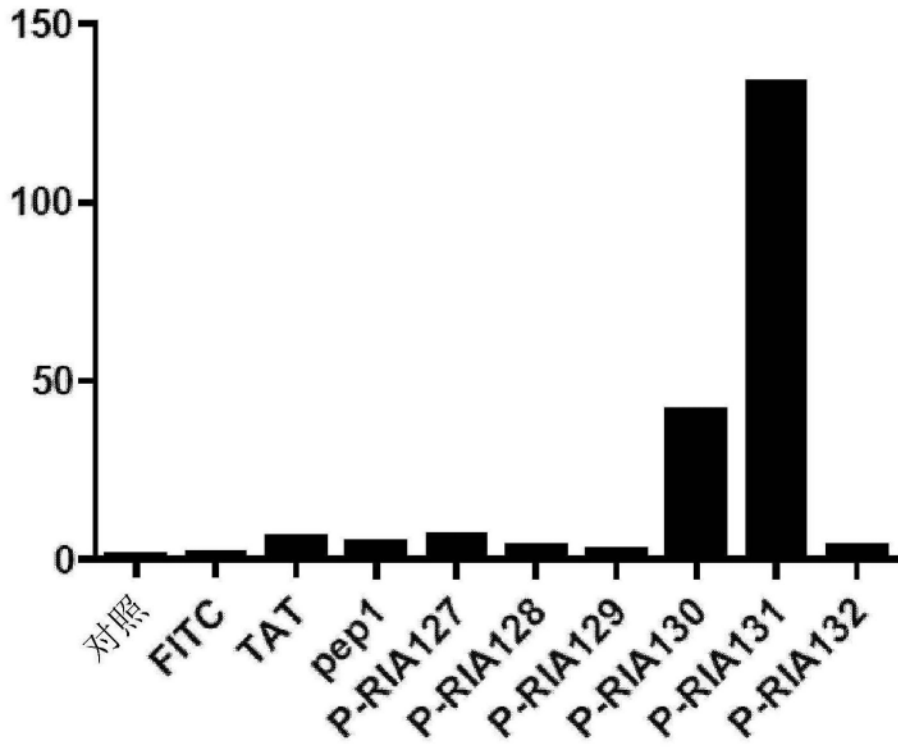


图45

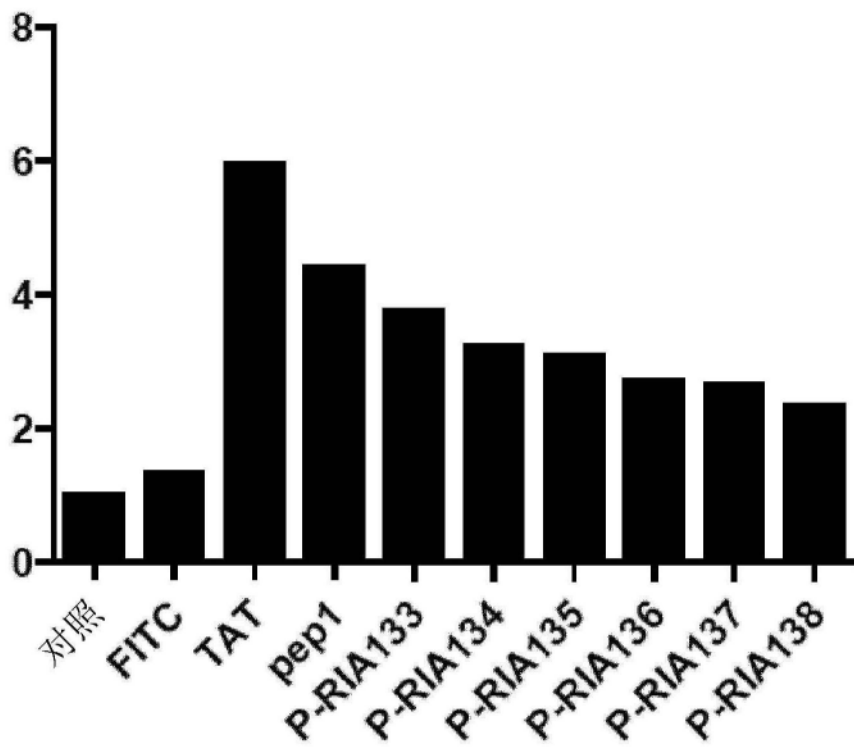


图46

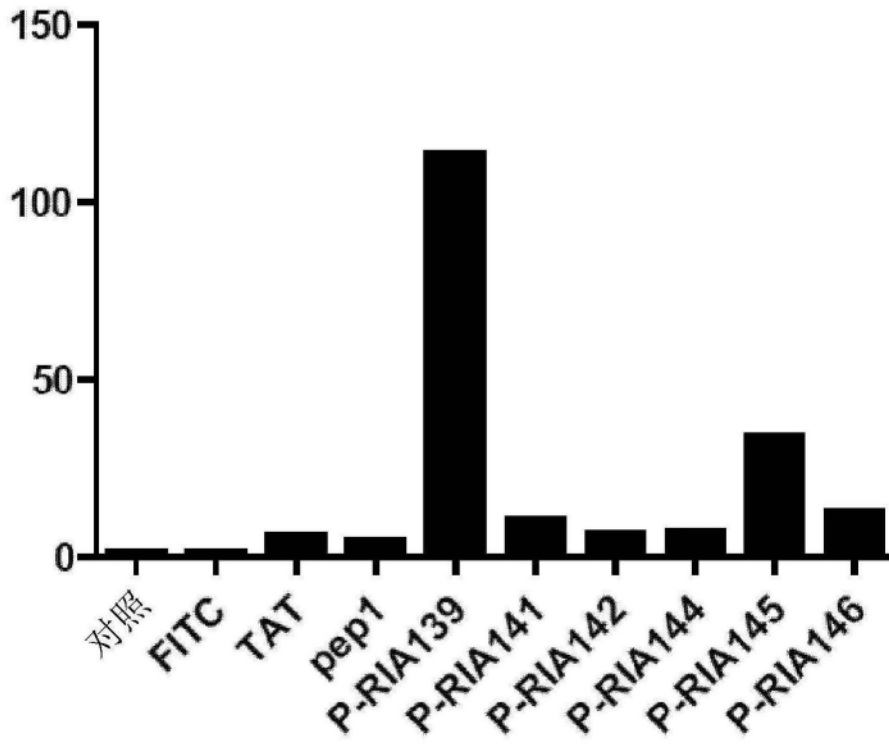


图47

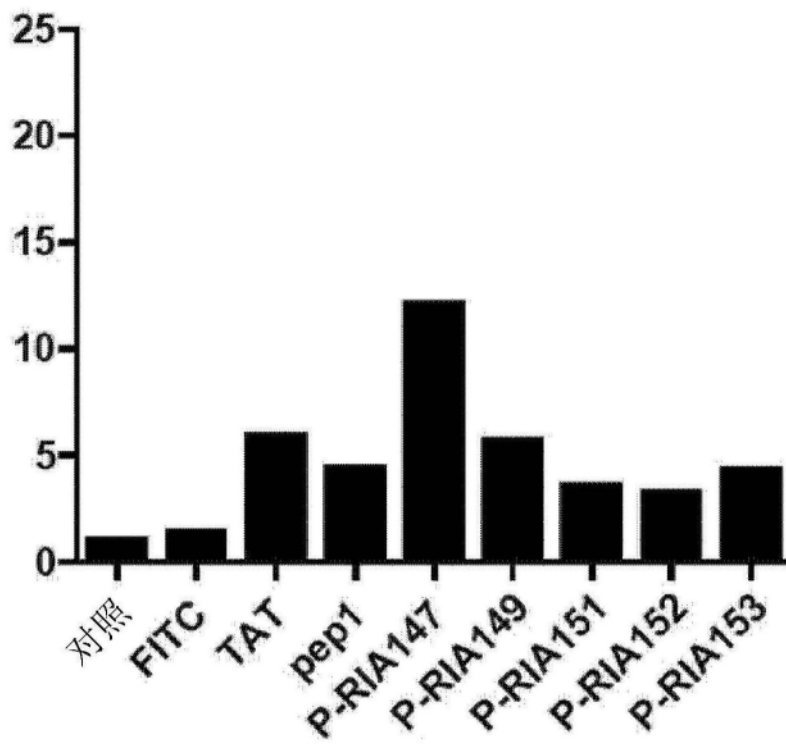


图48

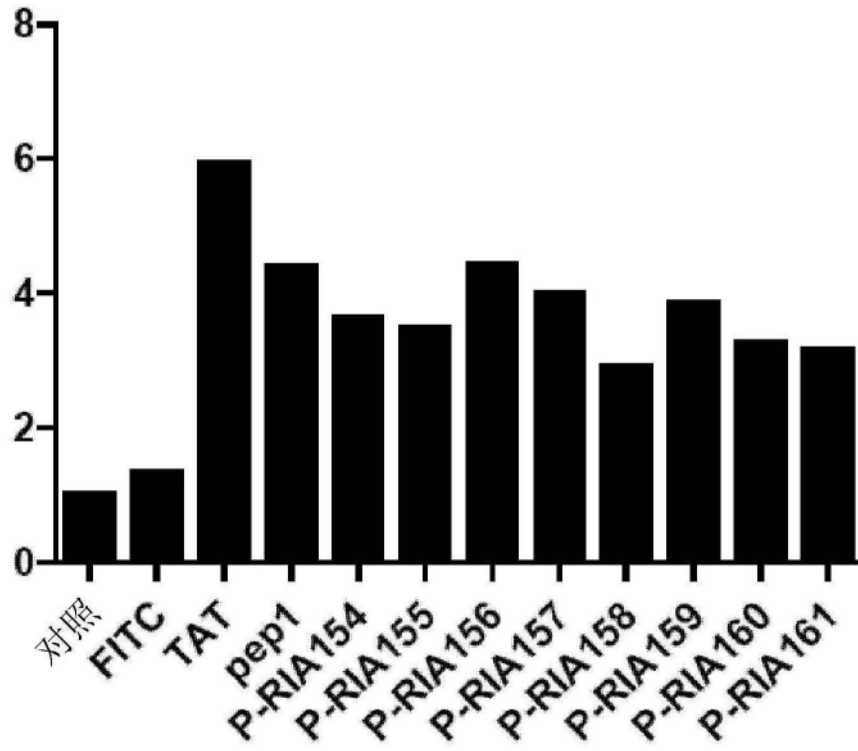


图49

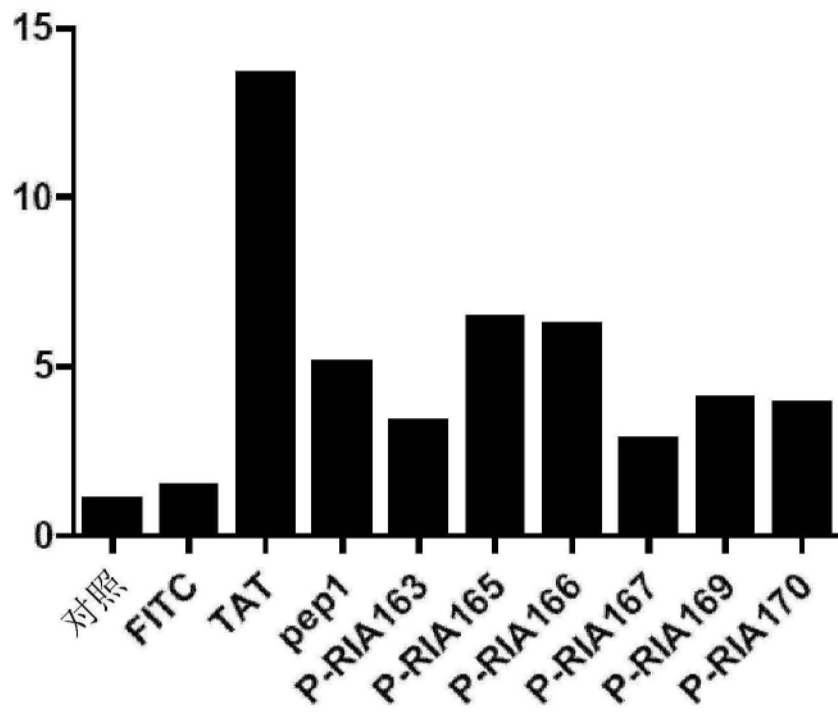


图50

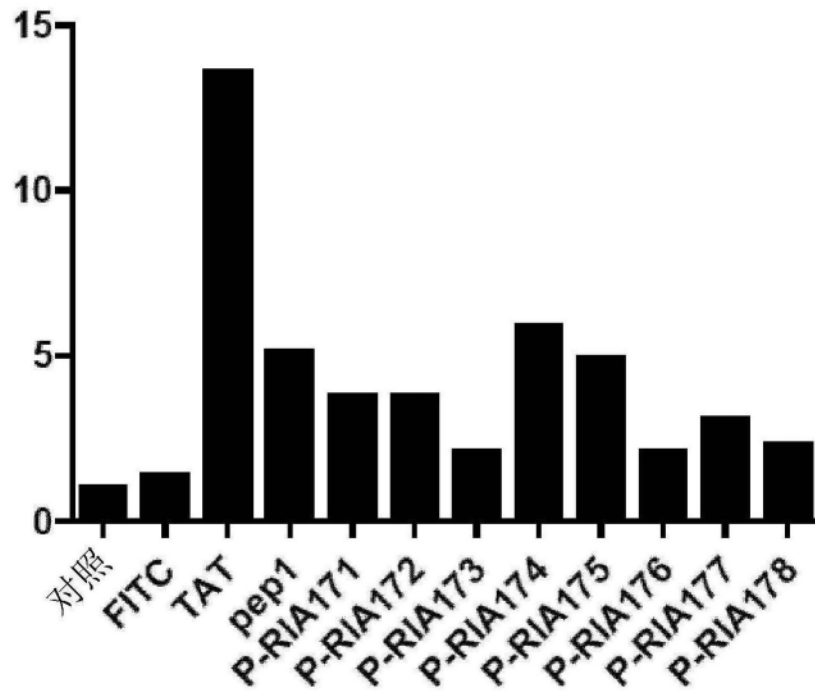


图51

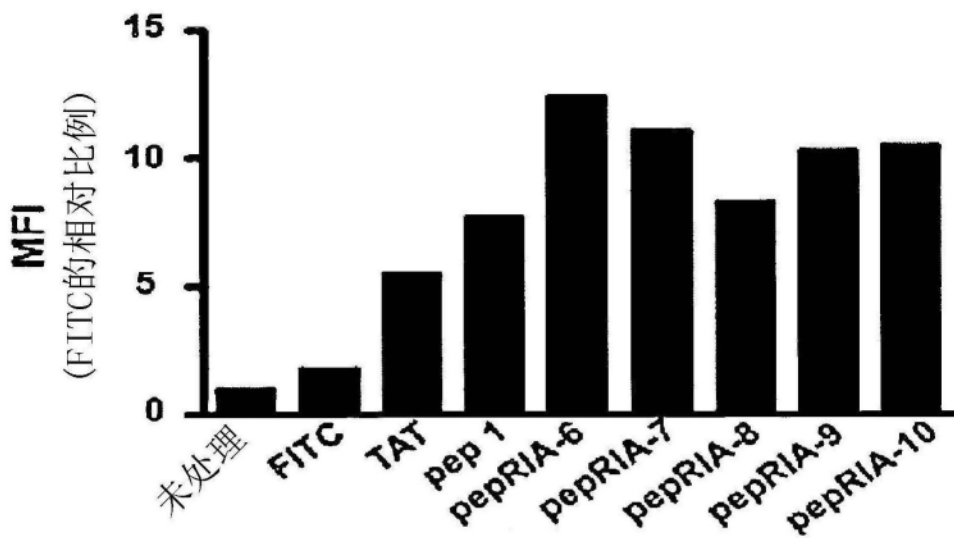


图52

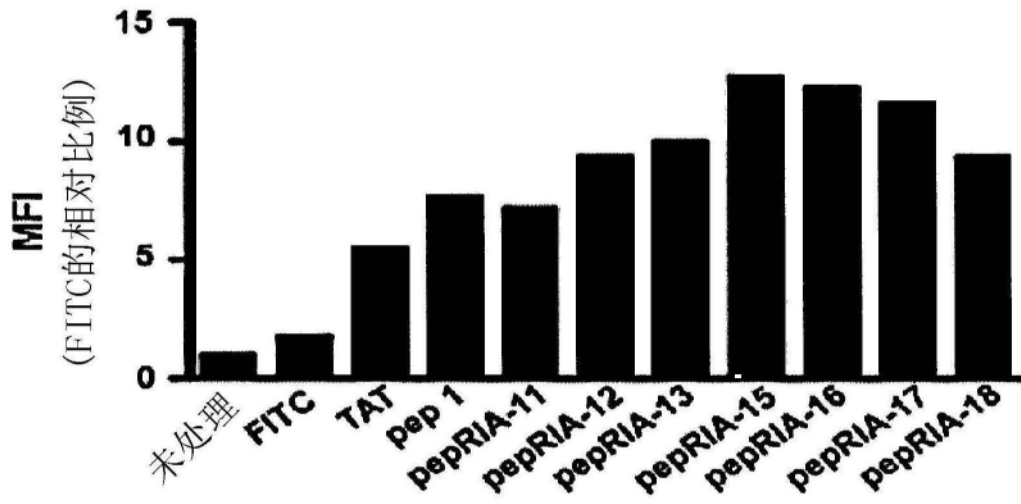


图53

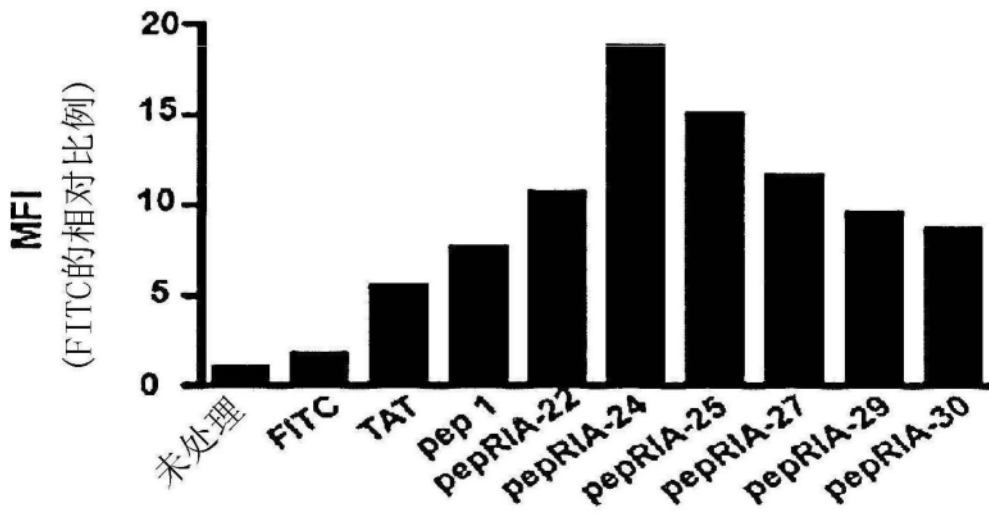


图54

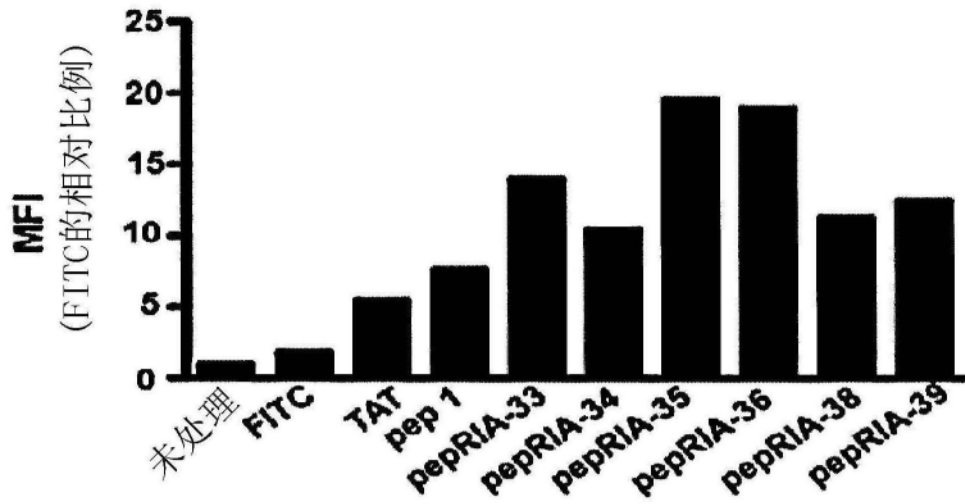


图55

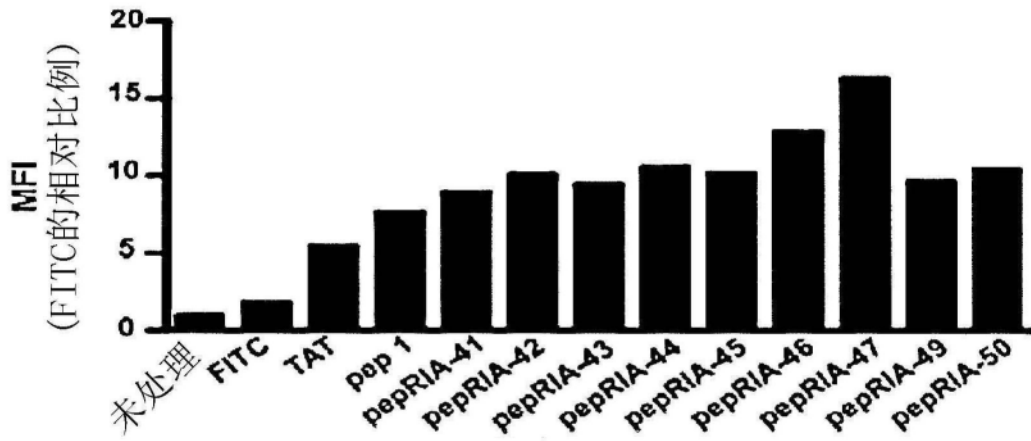


图56

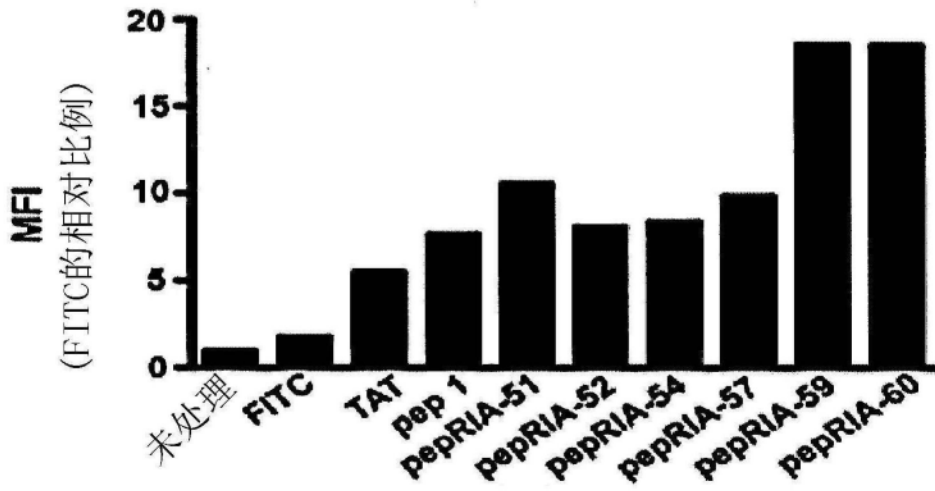


图57

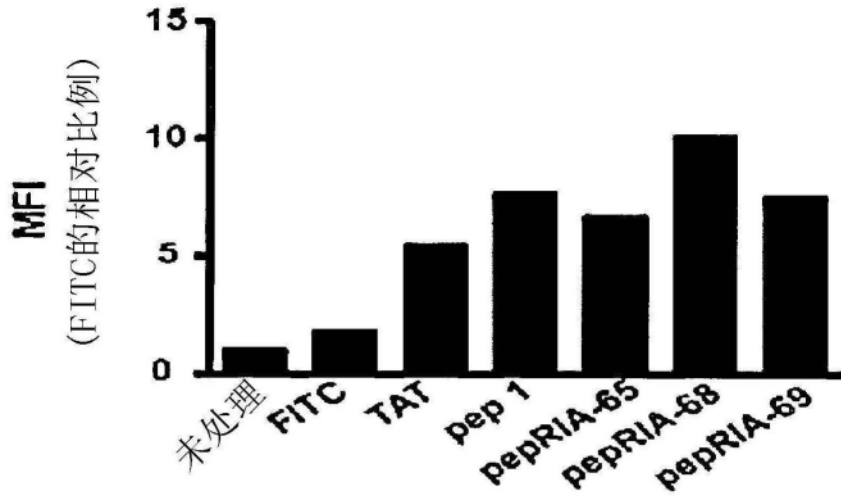


图58

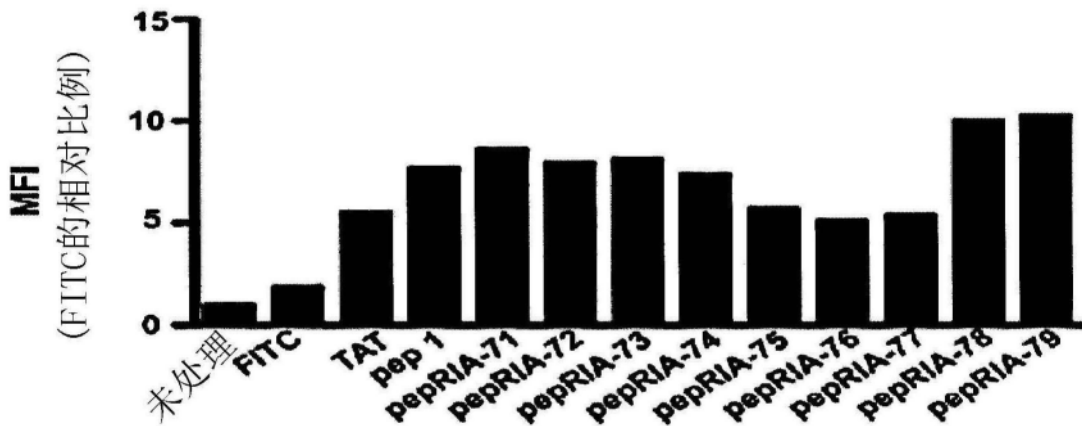


图59

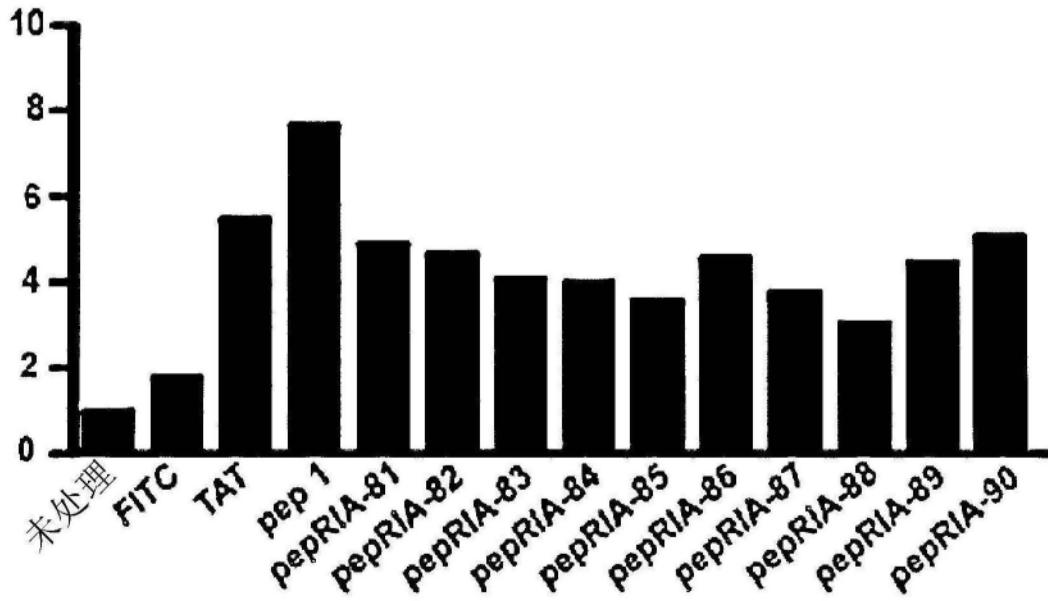


图60

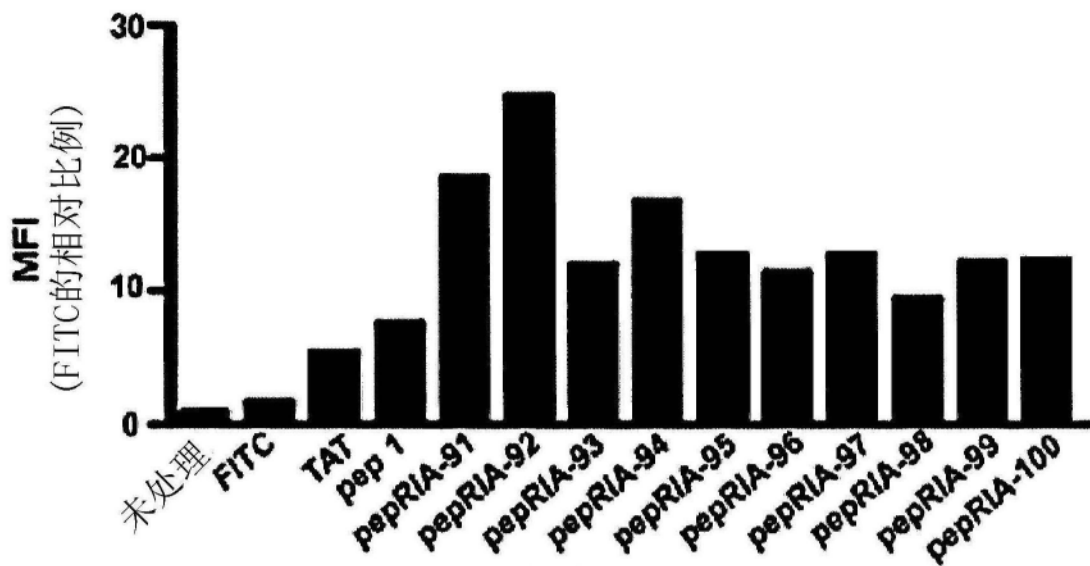


图61

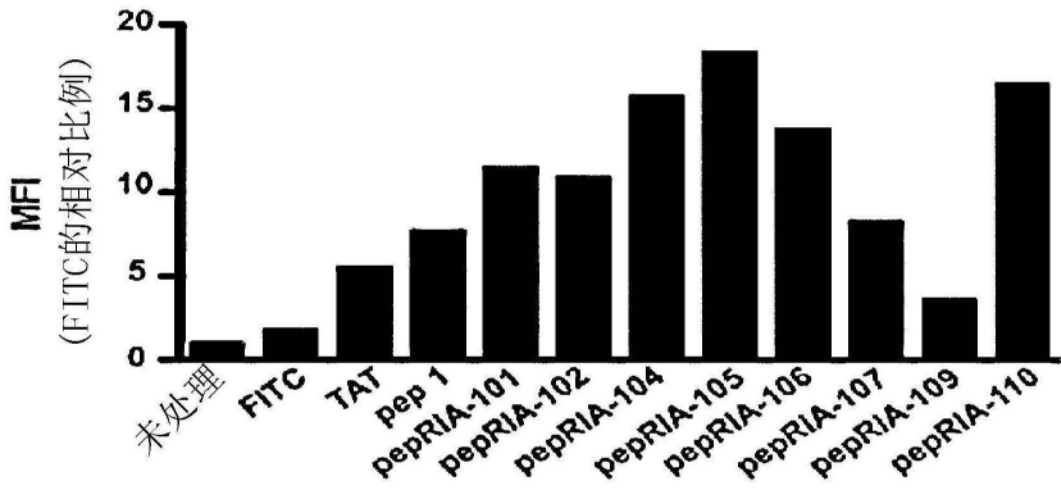


图62

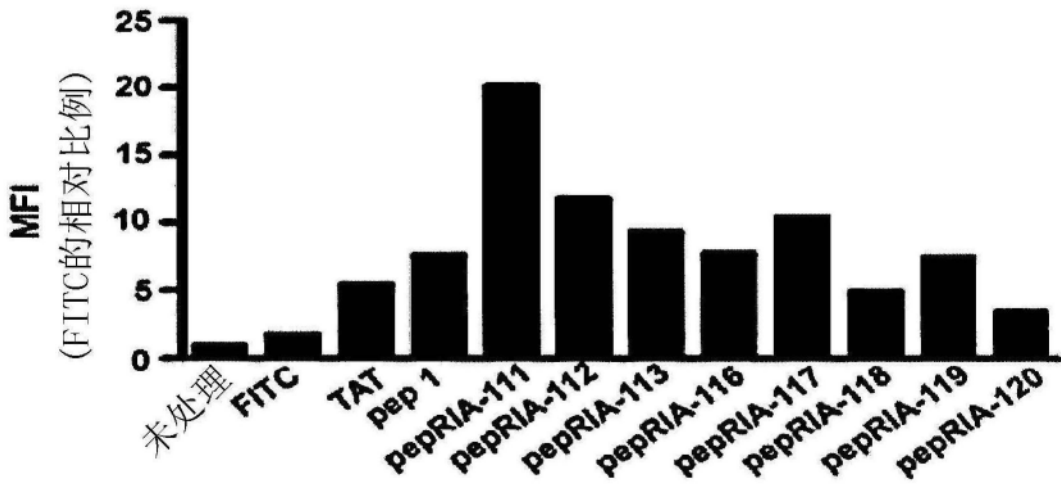


图63

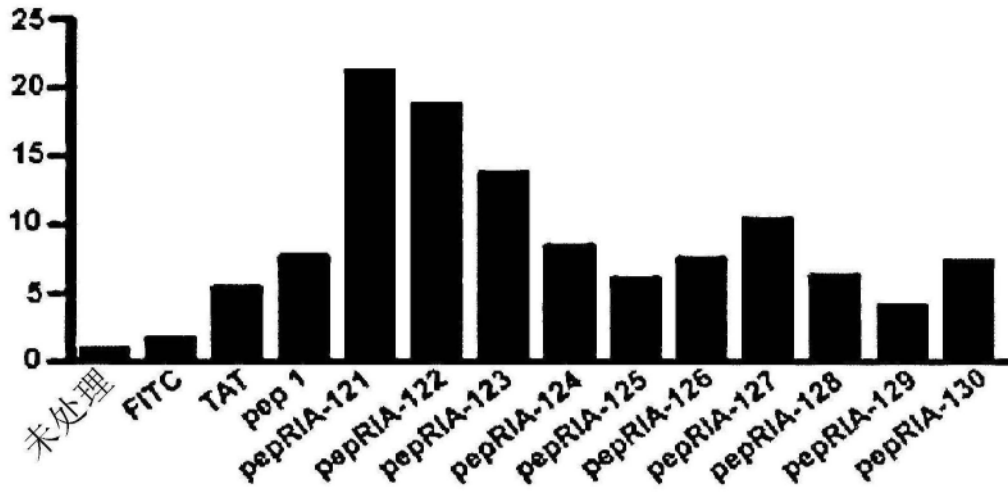


图64

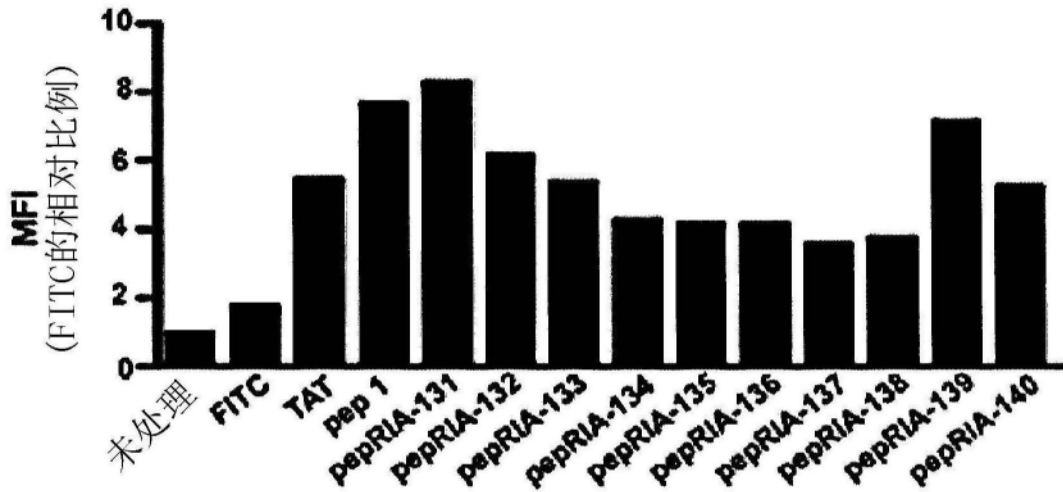


图65

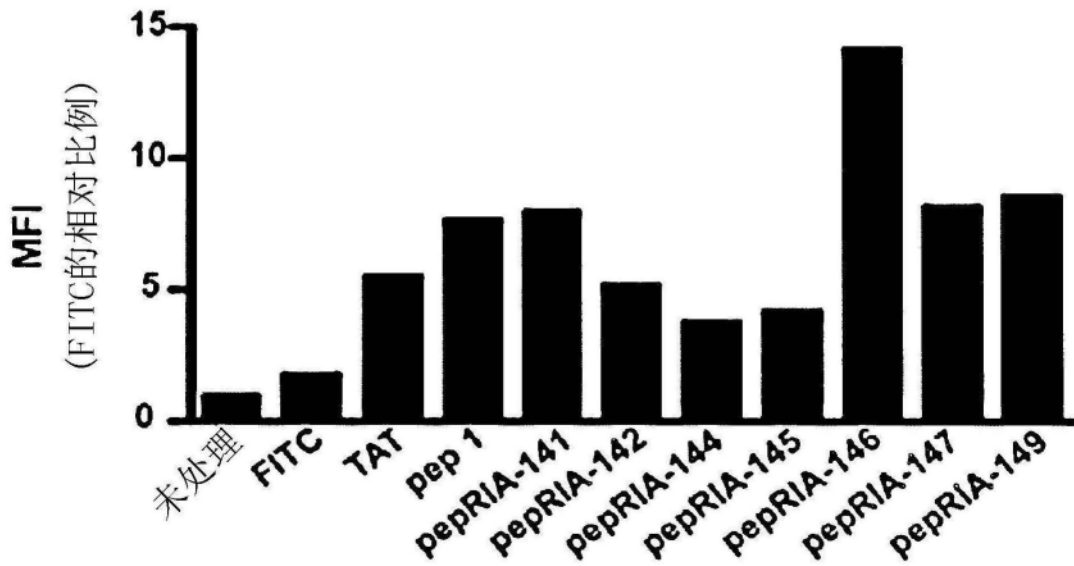


图66

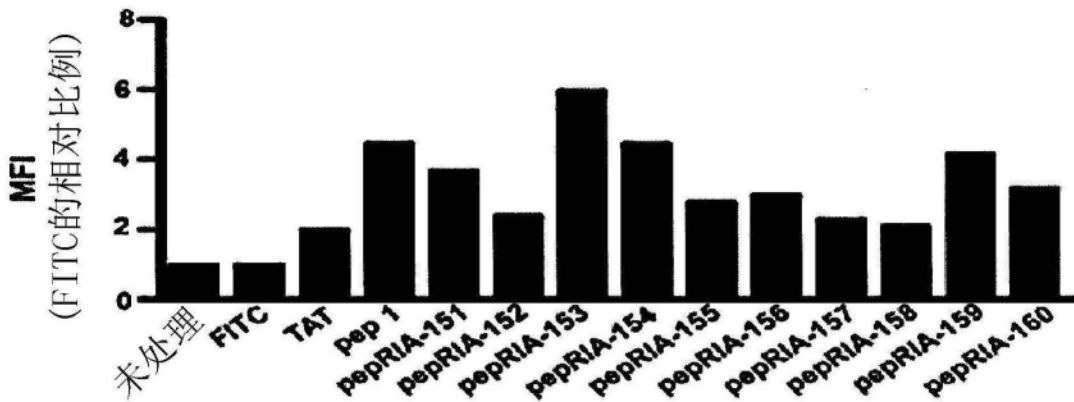


图67

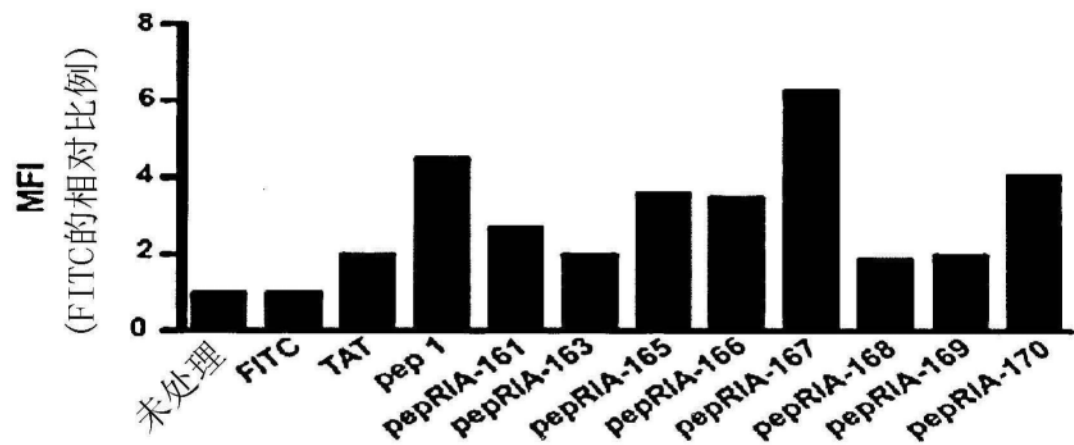


图68

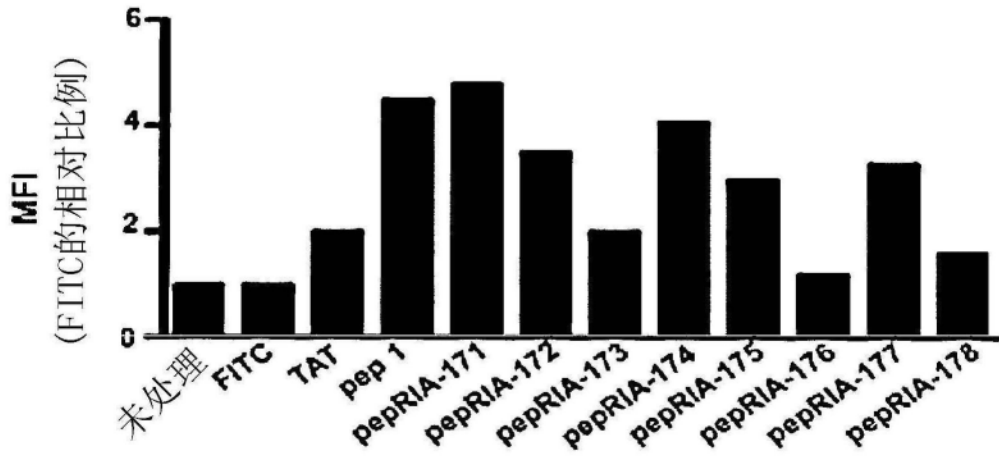


图69

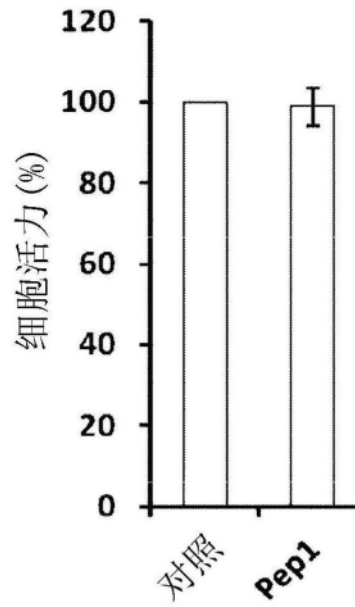


图70

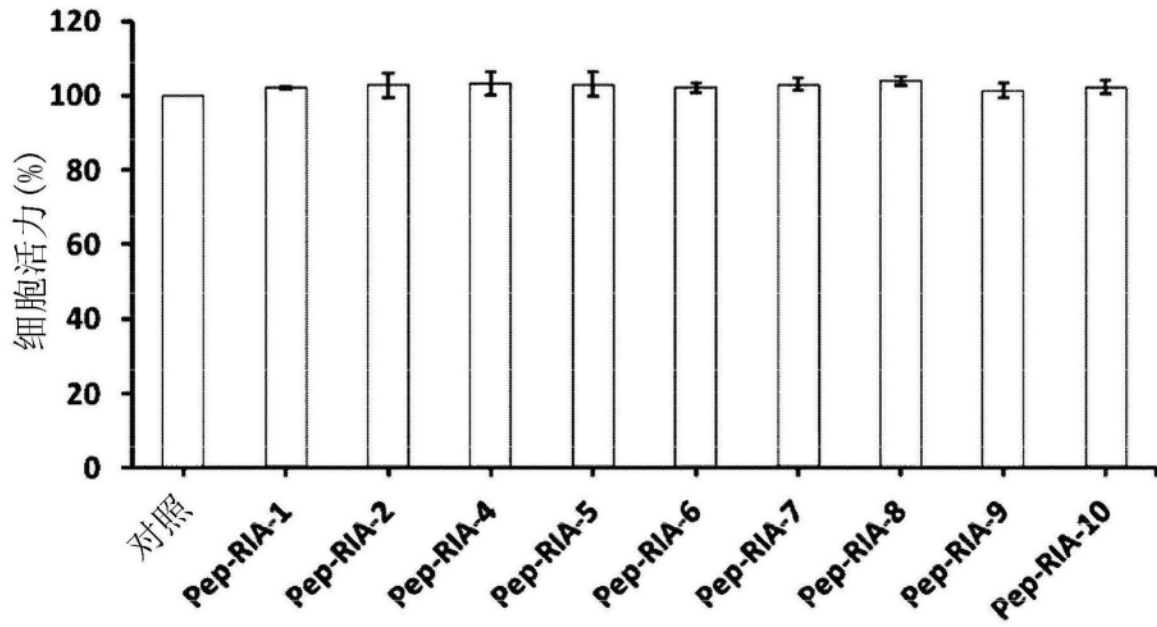


图71

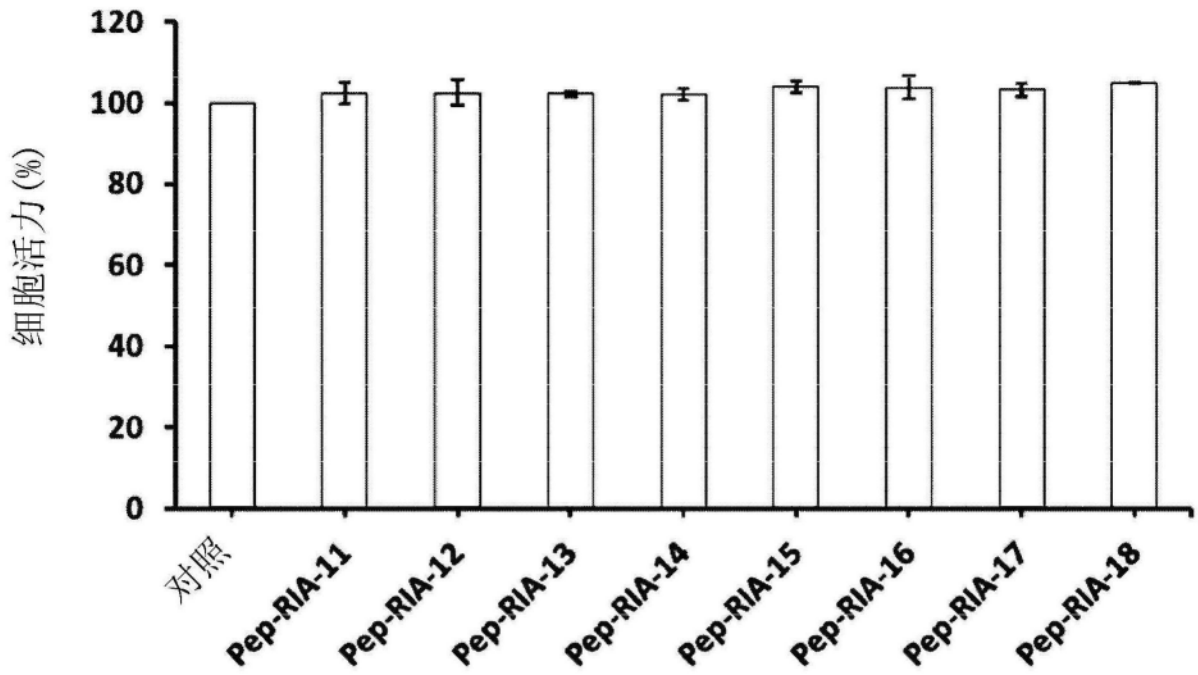


图72

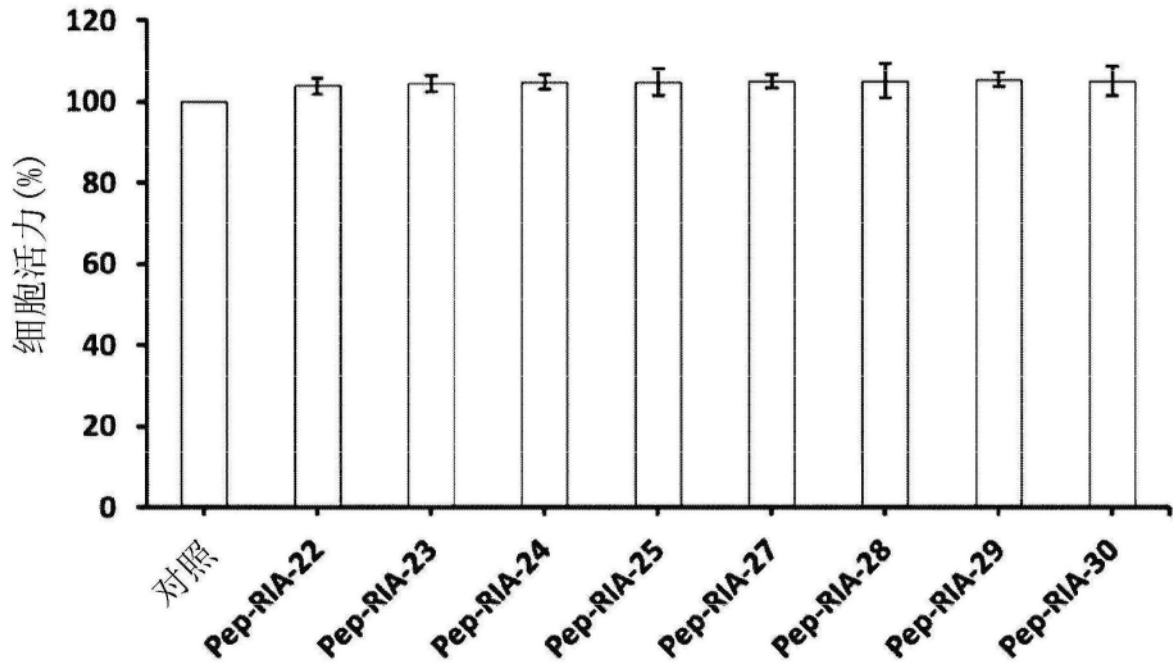


图73

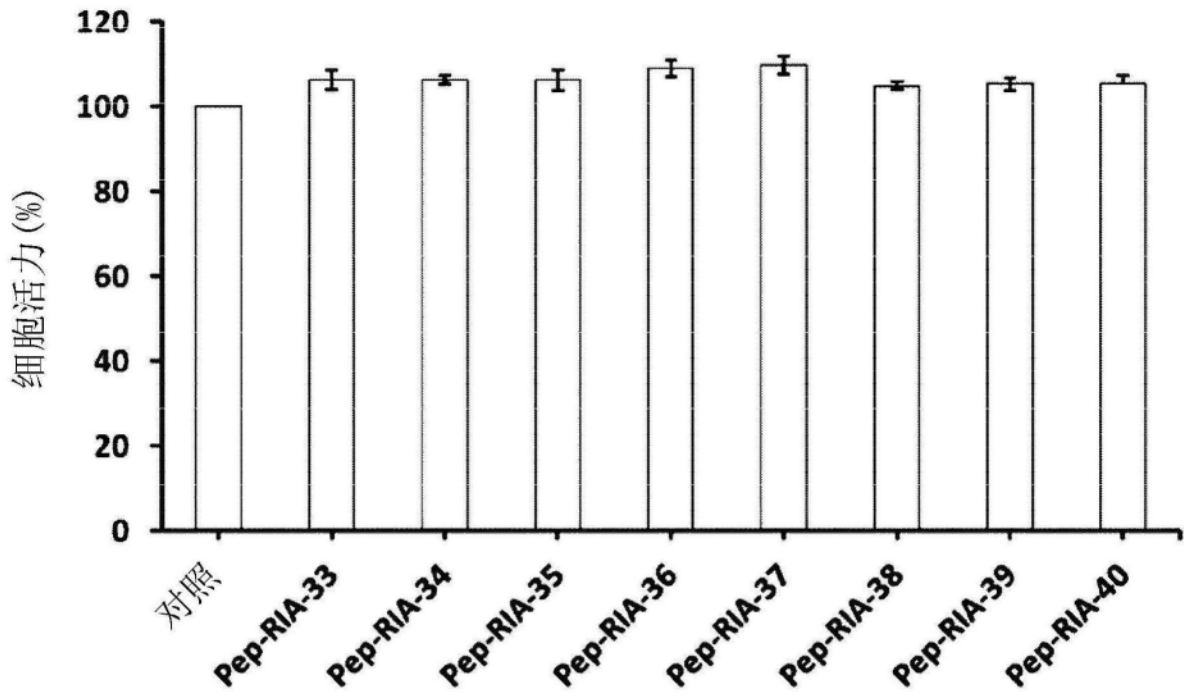


图74

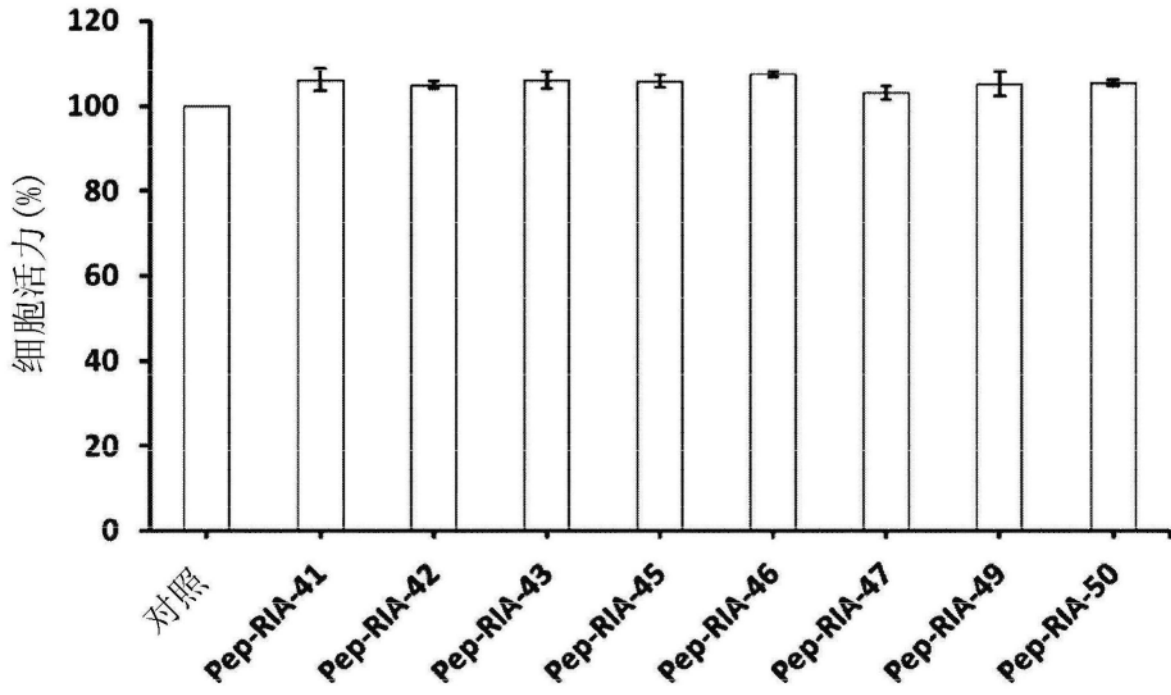


图75

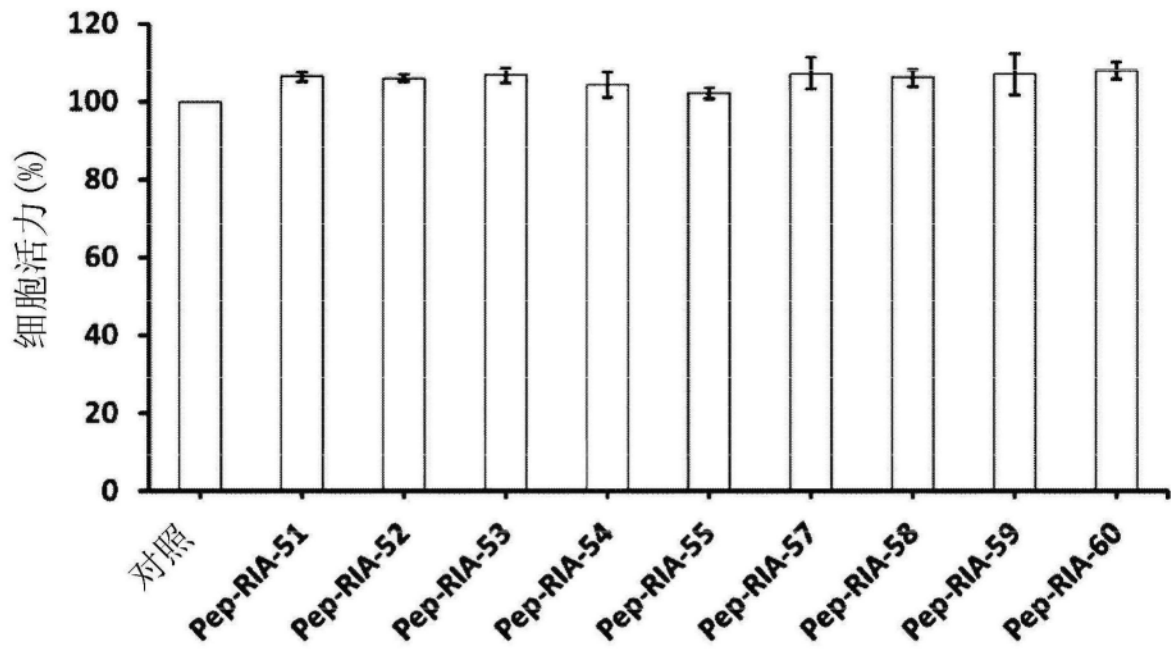


图76

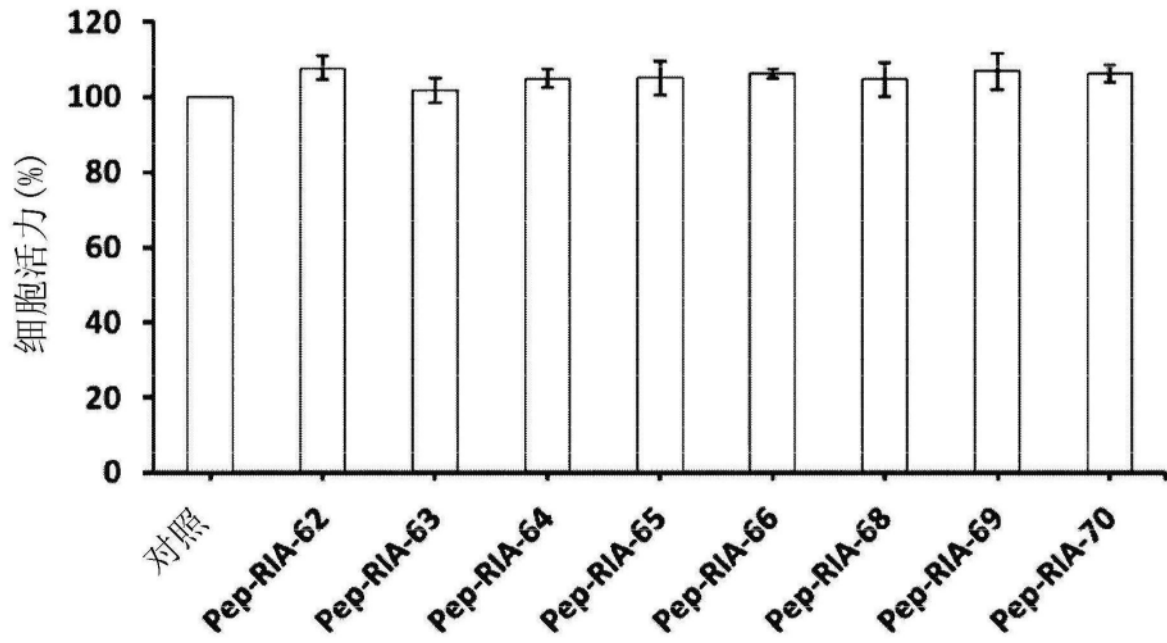


图77

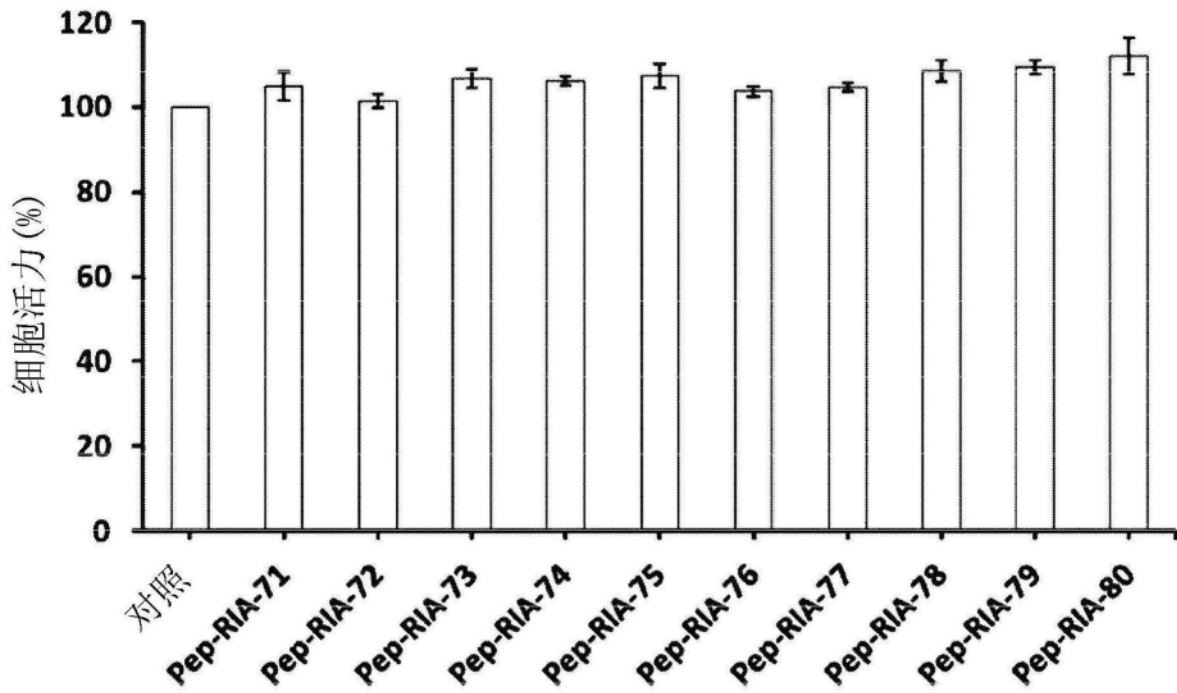


图78

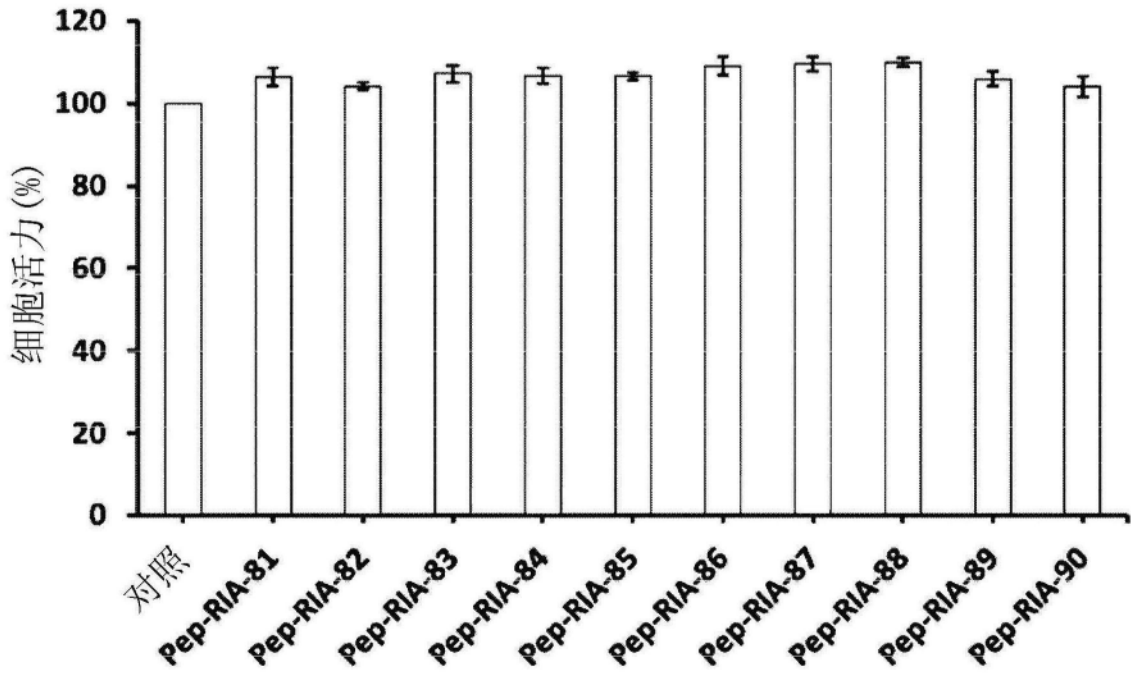


图79

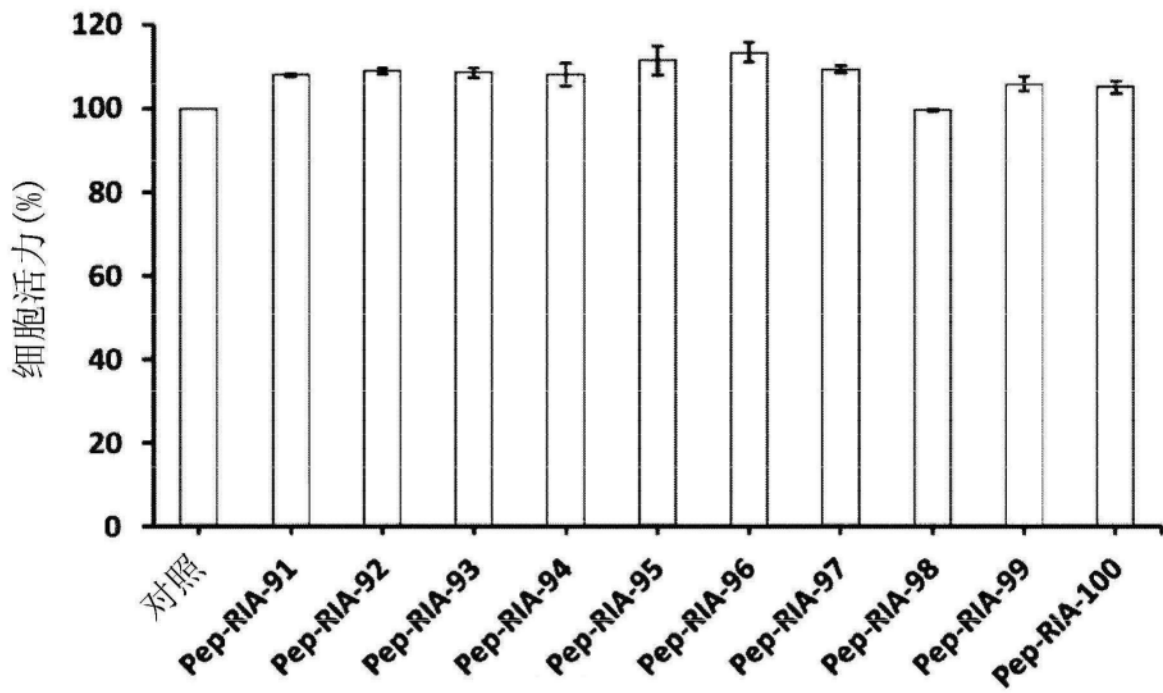


图80

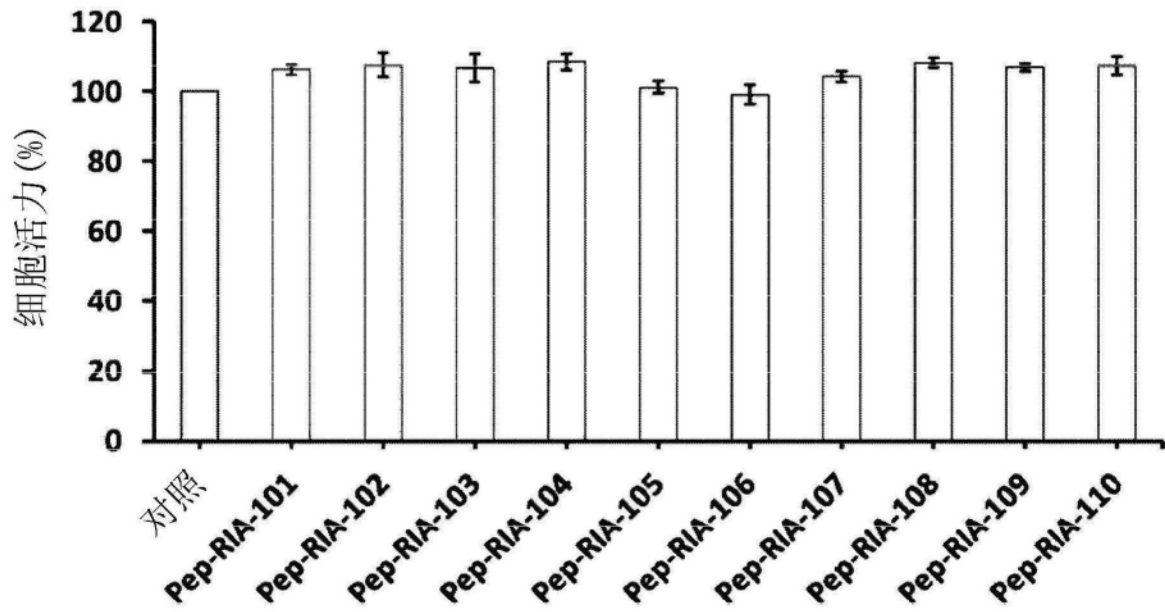


图81

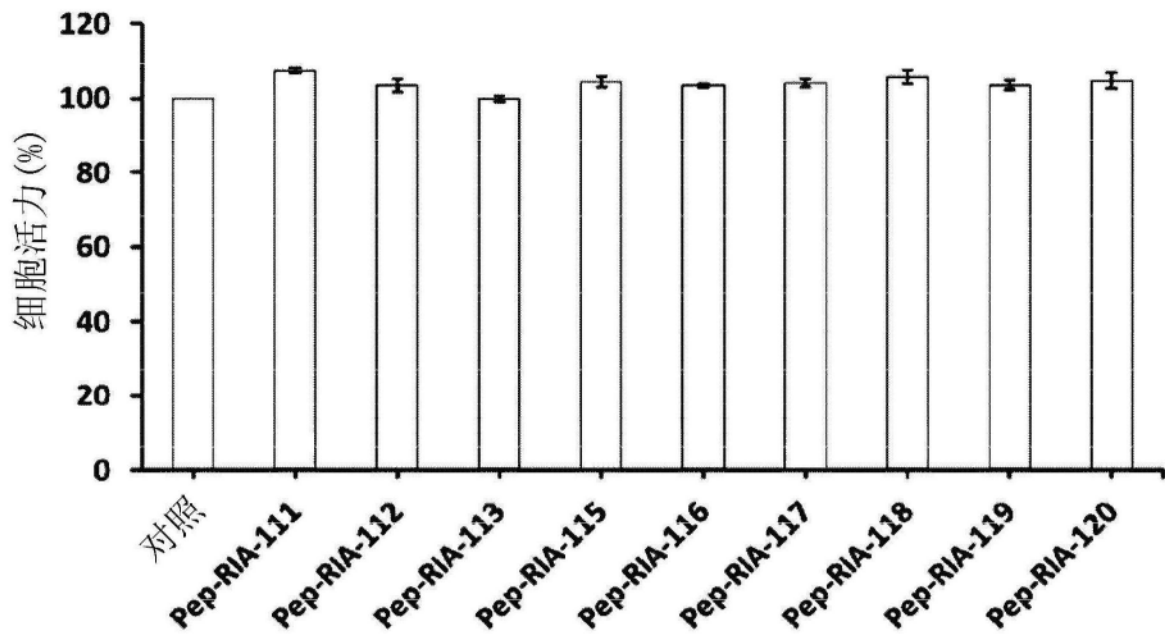


图82

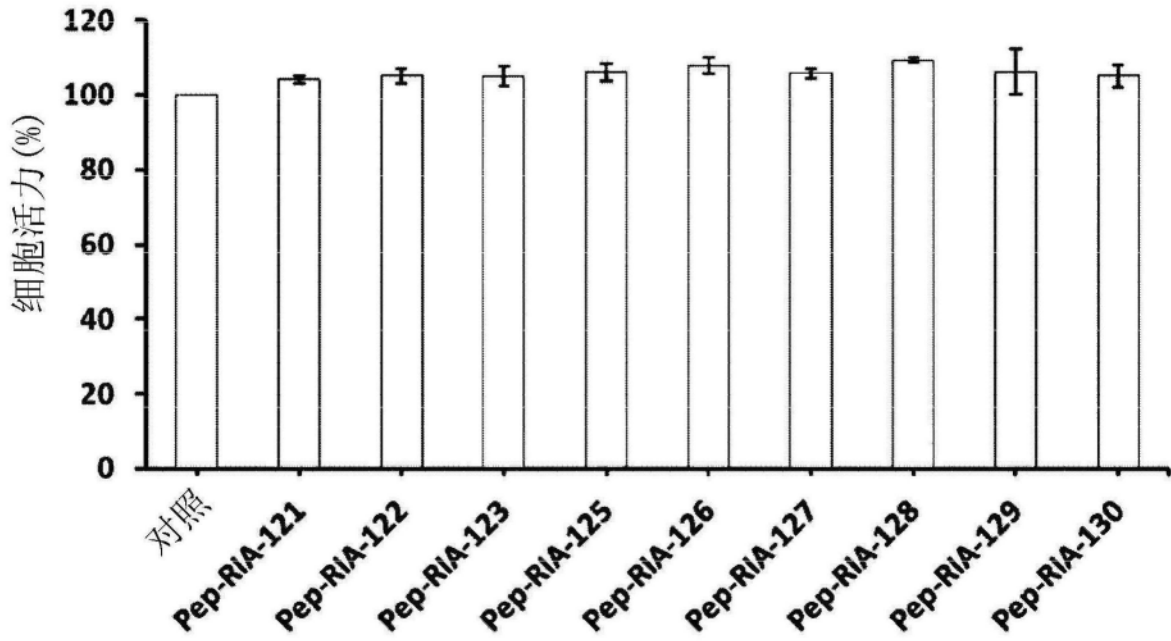


图83

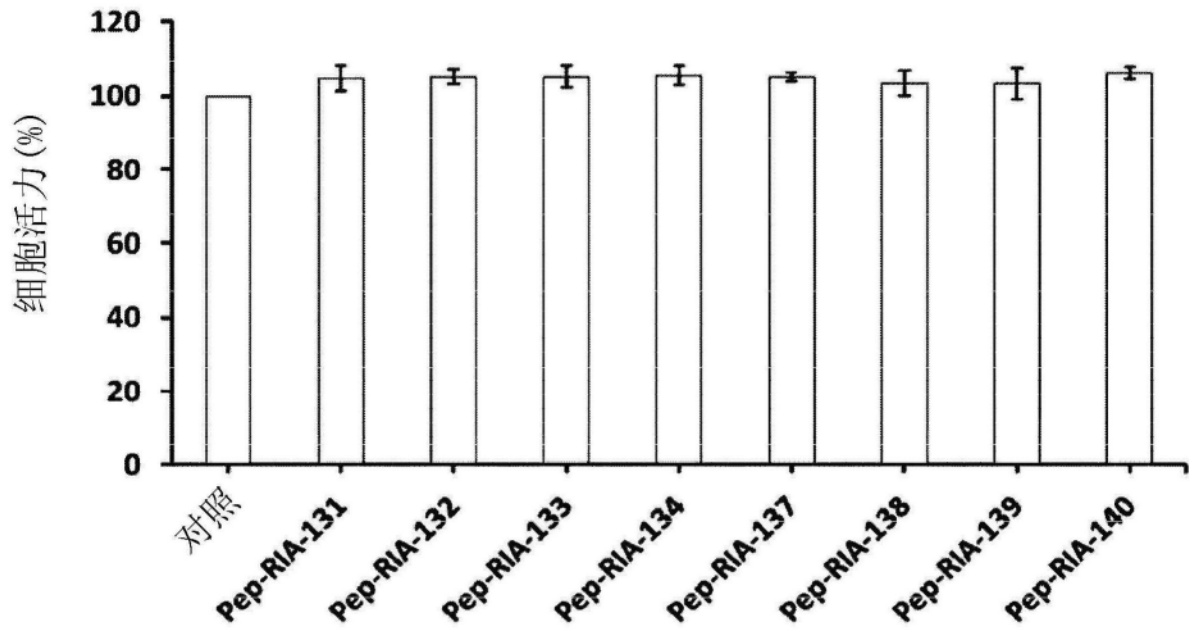


图84

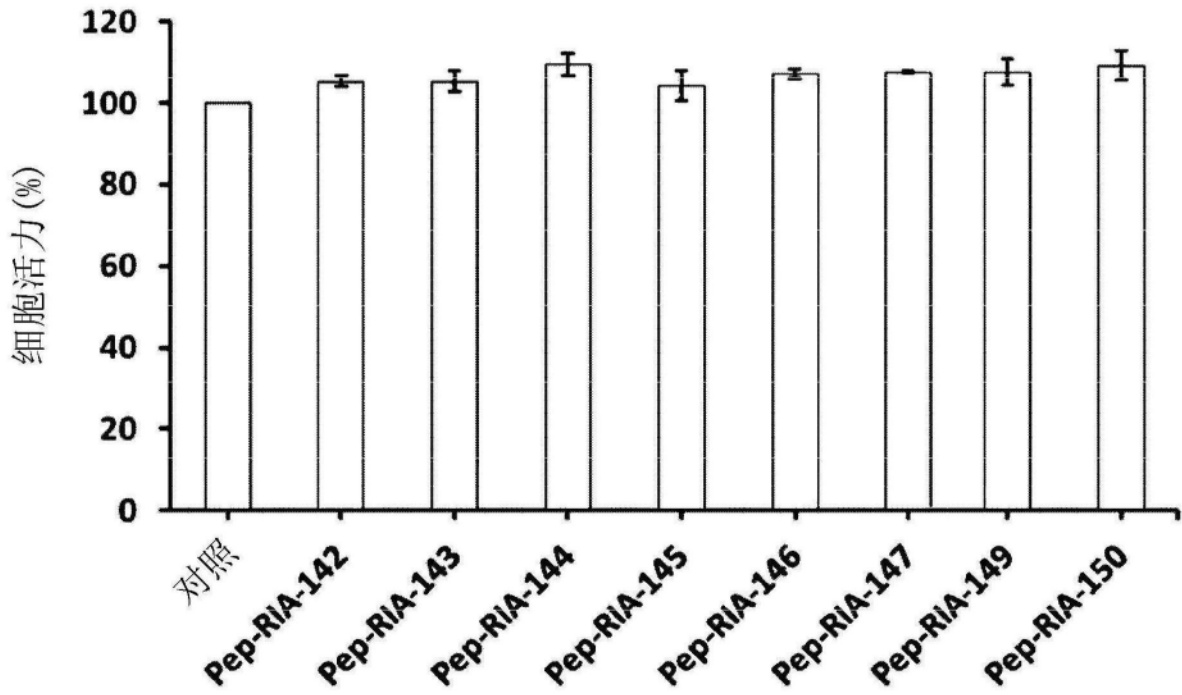


图85

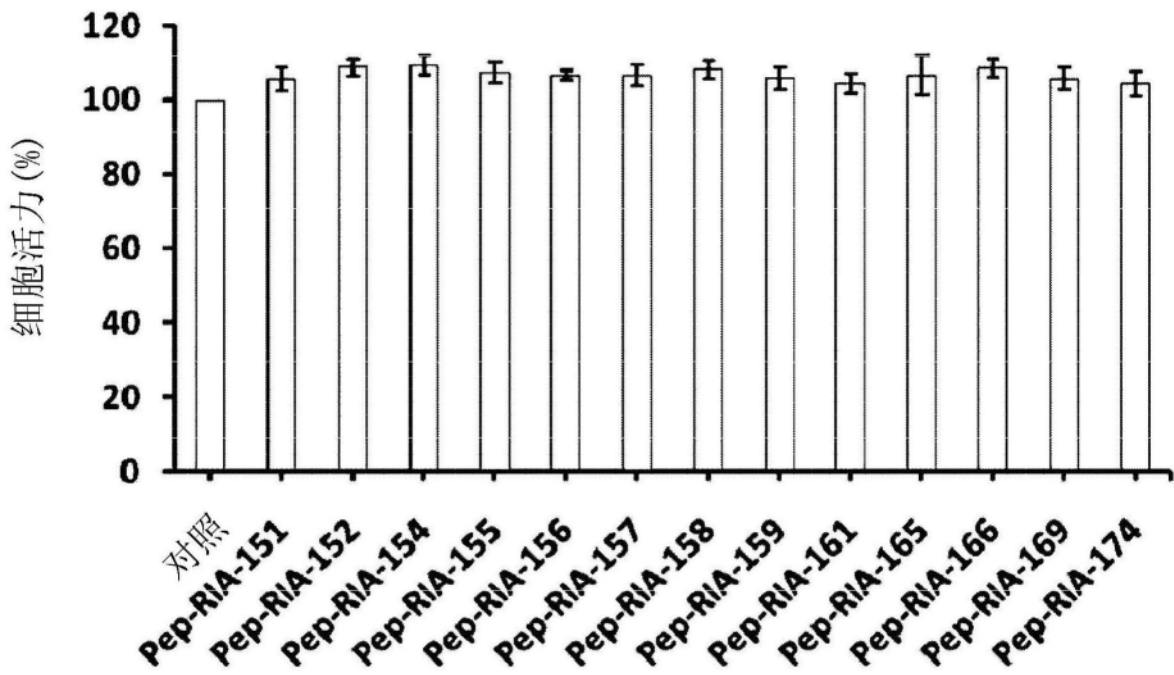


图86