(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 101801996 B
(45)授权公告日 2013.06.12

(21)申请号 200880106480.2

(22)申请日 2008.07.11

(30)优先权数据
60/949,710 2007.07.13 US

(85)PCT申请进入国家阶段日
2010.03.10

(86)PCT申请的申请数据
PCT/US2008/069716 2008.07.11

(87)PCT申请的公布数据
WO2009/048658 EN 2009.04.16

(73)专利权人 佛罗里达州墨西哥湾海岸大学
地址 美国佛罗里达州

(72)发明人 S·F·迈克尔 S·伊塞尔恩
R·加里 R·萨穆德拉拉
J·科斯丁 E·延维蒂苏克

(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
代理人 权陆军 郭文洁

(51)Int.Cl.
C07K 14/00(2006.01)
A61K 38/16(2006.01)
C07K 14/005(2006.01)

(56)对比文件
WO 2005002501 A2,2005.01.13, 全文.

Hrobowski, Y. M. et al..Peptide inhibitors of dengue virus and West Nile virus infectivity.《Virology Journal》.2005, 摘要部分7-9行,正文第3页右栏2-7行,图1和表格1.

Bai,F.et al.Antiviral peptides targeting the west nile virus envelope protein.《Journal of Virology》.2006, 第2047页-第2055页.

Liao,M.and Kielian M.Domain III from class II fusion proteins functions as a dominant-negative inhibitor of virus membrane fusion.《Journal of Cell Biology》.2005, 第111页-第120页.

审查员 刘贺

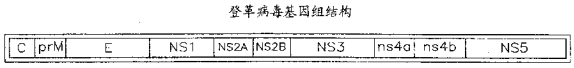
权利要求书1页 说明书6页
序列表1页 附图3页

(54)发明名称

优化的登革病毒进入抑制肽(DN81)

(57)摘要

本发明涉及肽进入抑制剂和确定这些能与具有II类E蛋白、例如登革病毒E蛋白的病毒的区域结合的抑制剂作为体内抗病毒化合物候选物的方法。



CN 101801996 B

1. 肽进入抑制剂，其由 SEQ ID NO :1 所示的氨基酸序列组成。

2. 权利要求 1 的肽进入抑制剂，其中所述肽进入抑制剂抑制登革病毒 E 蛋白。

3. 包含权利要求 1 的肽进入抑制剂的药物组合物。

4. 权利要求 3 的药物组合物，其还包括生物相容性的载体。

5. 权利要求 4 的药物组合物，其中所述生物相容性的载体选自盐水、葡萄糖和水。

6. 权利要求 4 的药物组合物，其中所述生物相容性的载体是缓冲盐水。

7. 确定病毒抑制剂的方法，该方法包括下列步骤 :使肽与病毒可结合区域接触，以及确定该化合物与病毒可结合区域的结合度，其中化合物的结合度衡量了该化合物对病毒的抑制活性，其中所述肽由 SEQ IDNO :1 所示的氨基酸序列组成。

8. 由 SEQ ID NO :1 所示的氨基酸序列组成的肽在制备用于治疗登革病毒感染的药物中的用途。

9. 权利要求 8 的用途，其中所述肽与人血清白蛋白连接。

优化的登革病毒进入抑制肽（DN81）

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本国际专利申请要求 2007 年 7 月 13 日提交的美国临时申请号 60/949,710 的优先权和利益，其通过引用并入本文。

[0003] 本发明涉及能与病毒区域结合的抑制剂。更具体而言，本发明涉及能与登革病毒包膜糖蛋白或登革病毒 E 蛋白，一种 II 类病毒 E 蛋白，中的区域结合的抑制剂。再具体而言，本发明涉及肽进入抑制剂和确定这些能与登革病毒 E 蛋白区域结合的抑制剂作为体内抗病毒化合物候选物的方法。

[0004] 发明背景

[0005] 登革病毒是黄病毒家族成员，施加了任何蚊媒病毒病原体的最大社会和经济负担之一。没有感染的特异性疗法，通过疫苗接种控制登革病毒已证明难以实现。几种其他的黄病毒是重要的人病原体，包括黄热病毒、西尼罗河病毒、蜱传脑炎病毒 (TBE) 和日本脑炎病毒 (JE)。

[0006] 包膜病毒通过膜融合进入细胞。黄病毒的结构蛋白 E 介导受体结合和融合两者，是所谓的“II 类”病毒融合蛋白。目前为止已鉴定了两类病毒“融合器 (fusion machine)”。I 类病毒融合蛋白包括粘和副粘病毒（例如流感病毒）、逆转录病毒（例如 HIV) 和纤丝病毒（例如埃博拉病毒）。II 类融合蛋白不仅发现于黄病毒（黄热病毒、西尼罗河病毒等），还发现于 α 病毒，其包括塞姆利基森林病毒和辛德比斯病毒以及丙型肝炎病毒。这两类的结构特征区别很大，但其均完成了同样的任务，即融合两个脂双层。

[0007] 人们更为熟悉的 I 类融合蛋白，例如流感病毒的血球凝集素 (HA) 和 HIV 的 gp120/gp41，在内部切割位点的 N 末端或其附近具有“融合肽”。该疏水和富含甘氨酸的片段包埋于 I 类融合蛋白的预切割处理 (cleaved-primed) 三聚体中，当低 pH 值 (HA 情况下）、受体结合 (gp120/gp41 情况下）或其他细胞进入相关信号引发大规模构象重排时显露出来。随后的可能事件包括融合蛋白与靶细胞膜的相互作用和三聚体的再折叠。后一步骤使融合肽与病毒膜锚着点聚集在一起，从而结合细胞和病毒膜，启动双分子层的融合过程。

[0008] 目前为止在黄热病毒和 α 病毒中发现的 II 类蛋白已进化出结构不同但机理相关的融合构造。在 I 类蛋白中，溶蛋白性裂解（黄病毒中从 PrM 到 M，α 病毒中从 pE2 到 E2) 产生成熟病毒体，融合蛋白处于亚稳构象，为融合而准备好的 (primed)。融合肽，蛋白延长的亚结构域尖端的内环，包埋在蛋白界面，在暴露于低 pH 值引发的构象变化中显露出来。

[0009] II 类病毒融合蛋白的融合机制尚未清楚地理解，也没有理论能特异性地抑制这些蛋白的融合。目前为止仅确定了一种黄病毒和一种 α 病毒包膜蛋白的前融合结构。因此需要能特异性抑制黄病毒、α 病毒和肝炎病毒的病毒感染的进入抑制剂。此外，由于融合是病毒感染中的关键步骤，关于包括登革病毒包膜蛋白在内的 II 类包膜蛋白机制的更好理解，以及鉴定这些蛋白内可被药物靶向的 (druggable) 区域将进一步开发能特异性抑制黄病毒、α 病毒和肝炎病毒的病毒感染的疗法。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明提供了可与 II 类病毒 E 蛋白中的区域结合的肽进入抑制剂。抑制剂与所

述区域的相互作用，或抑制剂对所述区域活性的调节可抑制病毒融合，由此抑制病毒感染。一方面，本发明提供了化合物和筛选针对这些可结合区域的化合物的方法，以发现由含 II 类蛋白的病毒引起疾病的治疗候选物。可筛选治疗候选物的疾病包括登革热、登革出血热、蜱传脑炎、西尼罗河病毒疾病、黄热病和丙型肝炎。

[0012] 在一个实施方案中，鉴定由含 II 类 E 蛋白的病毒引起的疾病的治疗候选物的方法包括使包含可结合区域的 II 类 E 蛋白与化合物接触，其中所述化合物的结合表明其为治疗候选物。化合物可选自包括肽类的化合物。结合可在体外或体内测定。在某些实施方案中，所述蛋白是登革病毒 E 蛋白。这些可结合区域同样可用于结构测定、药物筛选、药物设计和本文中描述和要求的其他方法中。

[0013] 此外，本发明提供了抑制登革病毒的病毒传染和 / 或登革病毒的病毒体包膜与靶细胞膜之间结合（将病毒基因组递送至细胞质内的过程）的方法。本发明提供了采用肽类或肽衍生物抑制登革病毒与细胞结合的方法。本发明提供了治疗由登革病毒诱导的疾病的方法。

[0014] 在本发明的另一个实施方案中，肽进入抑制剂包括 SEQ ID NO :1 所示的氨基酸序列。

[0015] 在本发明的又一个实施方案中，确定病毒抑制剂的方法包括使肽与病毒可结合区域接触，以及确定该化合物与病毒可结合区域结合度的步骤，其中化合物的结合度衡量了该化合物对病毒的活性。

[0016] 在本发明的又一个实施方案中，治疗登革病毒感染的方法包括施用治疗有效量肽的步骤，其中所述肽具有 SEQ ID NO :1 所示的氨基酸序列。

[0017] 附图简述

[0018] 图 1 显示了登革病毒的基因组结构 ;

[0019] 图 2 是 DN81 肽针对 DENV-2 的剂量响应抑制曲线示意图 ;

[0020] 图 3 是 DN81 肽错义序列针对 DENV-2 的剂量响应抑制曲线示意图 ;以及

[0021] 图 4 是 DN81 肽在不同浓度下细胞毒性测试示意图。

[0022] 发明详述

[0023] 本发明的一个实施方案涉及抑制登革感染的方法，包括抑制病毒体包膜与细胞膜的融合，将病毒基因组递送到细胞质中的过程。

[0024] 根据本发明，可使用任何抑制登革病毒包膜与细胞膜融合的肽或蛋白（包括那些感染人类以及非人类宿主的登革病毒）。在本发明不同的实施方案中，这些登革肽进入抑制剂可包括但不限于 :与几种登革病毒蛋白膜相互作用可结合区域相关的肽类。登革病毒的基因组结构如图 1 所示。

[0025] 术语“可结合区域”，当用于肽、核酸、复合物等时，是指登革病毒 E 蛋白或其他 II 类 E 蛋白的区域，其是结合减少或抑制病毒感染性的试剂的靶标或可能的靶标。对于肽来说，可结合区域通常指这样的区域 :其中肽的某几个氨基酸能够与登革病毒 E 蛋白的至少部分相互作用。对于肽或其复合物来说，可结合区域包括结合口袋和位点，肽或复合物结构域间的界面、肽或复合物的表面沟或轮廓或表面，其能够参与和另一个分子的相互作用，例如细胞膜。

[0026] 在一个实施方案中，登革肽进入抑制剂是 DN81，其具有 SEQ IDNo. 1 的序列 :

RWMVWRHWFHRLRLPYNPGKNKQNQQWP。

[0027] 在本发明的另一个实施方案中，与登革肽进入抑制剂有关的肽类包括同源性肽。本文中，术语“同源性登革肽进入抑制剂”应当理解为具有与登革病毒抑制蛋白和肽类相应部分相同序列的肽，其中一个或更多个氨基酸被功能等价的氨基酸替换。该术语同样指这些肽的衍生物，包括但不限于苄基化衍生物、糖基化衍生物，以及包括天然氨基酸对映体的肽。

[0028] 在本发明的其他实施方案中，登革肽进入抑制剂、相关肽或衍生物与载体分子例如蛋白连接。根据本发明的该实施方案，可使用的蛋白质包括但不限于人血清白蛋白。根据本发明，包括附加氨基酸的登革肽进入抑制剂也是有用的。

[0029] 本发明的登革进入抑制肽可用于抑制登革病毒病毒体与细胞的融合，因此可用于治疗哺乳动物的登革病毒感染。这些哺乳动物是患者，包括但不限于人类、狗、猫、鸟、马等。本发明的肽可以任何无菌的生物相容性药用载体施用给患者，包括但不限于盐水、缓冲盐水、葡萄糖和水。向患者施用肽的方法是本领域技术人员熟知的，其包括但不限于皮内、肌内、腹膜内、静脉内、皮下、口服和鼻内。此外，需要通过任何适宜的途径、包括静脉内注射将本发明的药物组合物引入中枢神经系统。其他实施方案预期了登革进入抑制肽或其衍生物的施用，其与包括人血清白蛋白 (HSA) 的分子载体连接。

[0030] 许多技术可用于筛选、鉴定、选择和设计能缔合登革病毒 E 蛋白或其他 II 类 E 蛋白、结构同源性分子和其他分子的化学实体。根据本文中所述方法测定的登革病毒 E 蛋白或其他 II 类 E 蛋白的结构的知识使得可以设计和 / 或鉴定具有与登革病毒 E 蛋白或其他 II 类 E 蛋白（或更具体而言，其可被药物靶向的 (druggable) 区域）的构象互补的形状的分子和 / 或其他调节物。应当理解，此类技术和方法可另外地使用登革病毒 E 蛋白或其他 II 类 E 蛋白及其结构等价物的确切结构坐标和其他信息。

[0031] 一方面，药物设计的方法通常包括计算性评价所选化合物与分子或复合物（例如任何 II 类病毒 E 蛋白）缔合的潜能。例如，该方法可包括下列步骤：使用计算工具在选择的化合物和所述分子或复合物的可结合区域间拟合，以及分析拟合结果以量化所述化学实体与可结合区域间的结合。

[0032] 另一方面，使用结合蒙特卡罗 (Monte Carlo) 结合算法的氨基酸一级序列和 Wimley-White 界面疏水性标度确定作为靶向病毒 E 蛋白的 DENV 感染登革肽进入抑制剂的候选物。

[0033] 本文中，术语“蒙特卡罗”通常是指任何合理的随机或准随机生成允许变量的值的程序。蒙特卡罗方法的实例包括如下选择值：(a) 随机从允许值选取；(b) 通过准随机序列例如 LDS（低偏差序列）选取；(c) 随机但利用实验或理论的在先信息有偏向地选取；以及 (d) 通过马尔可夫 (Markov) 序列从非平凡分布选取。

[0034] 更具体而言，“蒙特卡罗”方法是这样的一种技术：它通过使用统计抽样技术获得问题的概率近似解决。一种蒙特卡罗方法是马尔可夫方法，即一系列的随机事件，其中每一事件的发生概率取决于紧接的前一结果（参见 Kalos, M.H. 和 Whitlock, P.A.″ Monte CarloMethods：Volume I：Basics, ″ John Wiley & Sons, New York, 1986；以及 Frenkel, D.，和 Smit, B.″ Understanding Molecular Simulation：FromAlgorithms to Applications,：Academic Press, San Diego, 1996）。

[0035] Wimley-White 界面疏水性标度是通过基于热力学原则的亲水性图方法研究膜蛋白拓朴学和其他特征的工具。

[0036] 材料和方法

[0037] 登革肽进入抑制剂的制备

[0038] 肽可通过天然或重组病毒蛋白产生，或可使用标准重组 DNA 技术产生（例如通过含有在适当的转录启动子控制下的编码所需肽的重组核酸分子的微生物表达肽，以及从所述微生物收集所需肽）。优选的，本发明的肽可使用本领域任何已知的方法合成，包括但不限于 Merrifield 固相合成 (Clark-Lewis 等，1986，Science 231 :134-139)。

[0039] 病毒和细胞

[0040] DENV-1 菌株 HI-1、DENV-2 菌株 NG-2、DENV-3 菌株 H-78 和 DENV-4 菌株 H-42 获自加尔维斯顿的得克萨斯大学 (University ofTexas at Galveston) 世界卫生组织虫媒病毒参考实验室 (World HealthOrganization Arbovirus Reference Laboratory) 的 R. Tesh。病毒在非洲绿猴肾上皮细胞系 LLCMK-2 中繁殖，该细胞系由科罗拉多州立大学 K. Olsen 惠赠。LLCM K-2 细胞在 37℃，5％ (v/v)CO_2 的条件下在 Dulbecco′ s 改进的 eagle 培养基 (DMEM) 中培养，所述培养基含有 10％ (v/v) 胎牛血清 (FBS)、2mM Glutamax、100U/ml 青霉素 G、100μg/ml 链霉素和 0.25μg/ml 两性霉素 B。

[0041] 集落形成单位 (FFU) 降低测定

[0042] 将 LLCMK-2 靶细胞以 $1x10^5$ 细胞 / 孔的密度于感染前 24 小时接种于 6 孔板中。将约 200FFU 的病毒与或不与化学物质在无血清 DMEM 中在室温下温育 1 小时。使用病毒 / 化学物质或病毒 / 对照混合物在 37℃感染靶细胞融合单层 1 小时，每 15 分钟振荡。随后向培养基中通气，覆盖含 0.85％ (w/v)Sea-plaque 琼脂糖 (Cambrex Bio Science，Rockland，ME) 的新鲜 DMEM/10％ (v/v)FBS。将含琼脂覆层的细胞在 4℃下孵育 20 分钟以固定琼脂。感染的细胞随后在 37℃下用 5％ CO_2 温育 3 天 (DENV-1、3 和 4) 或 5 天 (DENV-2)。感染的培养物在 4℃下用 10％福尔马林固定过夜，用 70％ (v/v) 的乙醇透化 20 分钟，在免疫染色前用 PBS 冲洗。使用来自小鼠抗 DENV 杂交瘤 E60（从华盛顿大学的 M. Diamond 处获得）的上清，随后用辣根过氧化物酶缀合的山羊抗小鼠免疫球蛋白 (Pierce，Rockford，IL) 检测病毒集落，用 AEC 发色底物 (Dako，Carpinteria，CA) 显像。结果表示为至少两次独立试验的平均值，每次试验重复 3 次。

[0043] 细胞毒性测试

[0044] 根据厂商的技术说明，使用 TACS™ MTT 细胞增殖测试 (R&D 系统，Inc.，Minneapolis，MN) 监测线粒体还原酶活性测试化学物质的细胞毒性。在 96 孔板中向 LLCMK-2 细胞的融合单层中加入化学物质的无血清 DMEM 稀释液，于 37℃保持 1 小时。类似于集落形成抑制测试，随后在 37℃用 5％ (v/v)CO_2 孵育 24 小时。使用 Tecan GeniosProplate reader(Tecan US，Durham，NC) 测定 560nm 的吸光度。

[0045] 使用 DN81 进行机理分析

[0046] DN81 针对 DENV-2 的进入后集落形成测试

[0047] 为确定观察到的抑制效应是否与病毒生命周期中进入后步骤干扰有关，在 37℃下使约 200FFU 的无 DN81 的 DENV-2 结合并进入靶细胞 1 小时。如集落形成测试中所述。随后用 PBS 冲洗，除去未结合的病毒，向进入后的细胞中加入 DN81，在 37℃保持 1 小时。再次

用 PBS 洗涤培养物，琼脂糖覆盖，孵育，按集落形成测试中所述进行免疫检测。

[0048] DN81 针对 DENV-2 的结合前集落形成测试

[0049] 为确定观察到的抑制效应是否源于靶细胞表面修饰引起的干扰，将 DN 81 与靶细胞在 4℃下孵育 1 小时。用 PBS 冲洗细胞，在 4℃下用约 200FFU DENV-2 感染细胞。琼脂糖覆盖，孵育，随后按集落形成测试中所述进行免疫检测。

[0050] DN81 针对 DENV-2 的结合后集落形成测试

[0051] 为确定观察到的抑制效应是否源于病毒体与靶细胞在结合前和结合后相互作用的干扰，在 4℃下用约 200FFU DENV-2 与靶 LLCMK-2 细胞结合 1 小时，以允许结合，但防止内化。在 4℃下用 PBS 洗去未结合的病毒，随后加入 CF238，在 4℃孵育 1 小时。再次于 4℃下用 PBS 洗涤培养物，温热至 37℃。琼脂糖覆盖，孵育，随后按集落形成测试中所述进行免疫检测。

[0052] qRT-PCR 病毒结合测试

[0053] LLCMK-2 靶细胞的感染在 6 孔板中进行，一式两份，使用 10^5FFU 的 DENV-2，其预先在 4℃用 CF 238 或混合的异型抗 DENV 人血清孵育 45 分钟。在 4℃下感染 45 分钟后，用 PBS 洗涤感染的单层，用细胞刮棒收集，加入到含 350μl AR-200 硅油 (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO) 和 150μl 硅酮液 (Thomas, Swedesboro, NJ) 的混合物的 1.5ml 微量离心管中。在小型离心机中以 14,000rpm 离心 1 分钟，从细胞结合的病毒沉淀中分离未结合的病毒。随后将离心管没入液氮中 30 秒，冷冻内含物。使用小型断线钳 (wire clipper) 剪下管的底部置于 15ml 圆锥形管中，回收含结合病毒的细胞沉淀物。使用 Qiagen 病毒 RNA 提取试剂盒 (Qiagen, Chatsworth, CA) 从细胞沉淀物中提取病毒 RNA。

[0054] 按照厂商说明和扩增方案，提取的 RNA 用 Quantitect Sybr GreenRT-PCR 试剂盒 (Qiagen inc., Chatsworth, CA) 进行定量实时逆转录 PCR(qRT-PCR)，使用登革特异性引物：(Den2F :catatgggtggaatctagtacg, Den2R :catatgggtggaatctagtacg)。每个反应总体积为 20μL(10μL 2XSYBR green master mix, 10μM 引物各 0.5μL, 0.2μL 逆转录酶和 5μL 病毒 RNA)，使用 Lightcycler 热循环仪 (Roche Diagnostics, Carlsbad, CA)，按照下列扩增方案进行：50℃ 20 分钟逆转录 RNA；95℃ 15 分钟激活 HotStart Taq DNA 聚合酶；45 个 PCR 循环：94℃ 15 秒，50℃ 15 秒，72℃ 30 秒，最后一步也是荧光数据捕获步骤。通过将温度缓慢增加至 95℃ (0.1℃ /s) 进行熔解曲线分析，代表扩增产物荧光显著高于背景的循环数的阈循环使用 Lightcycler 5.3.2 软件 (Roche) 计算。

[0055] 分析

[0056] 使用 Origin 6.0 作图软件 (Northampton, MA) 生成图。统计学分析使用 Graphpad Prism 4.0 软件包进行 (San Diego, CA)。P 值低于 0.05 被认为是显著性的。

[0057] 结果

[0058] 不同化学物质针对 DENV-2 的抑制测试

[0059] 使用集落形成测试量化每种化学物质针对 DENV-2 的抑制活性，如先前所描述 (Hrobowski, 等 2005)。如图 2 所示，在化学物质在 1% DMSO/ 水溶液中溶解度规定的浓度范围内产生剂量响应曲线。对照的 1% DMSO/PBS 溶液在该测试系统中显示无 DENV 抑制活性 (数据未显示)。DN81 肽显示抑制活性作为浓度的函数增加。如图 3 所示，10 个 AN 肽的错义序列没有显示针对抑制 DENV-2 的一致活性。

[0060] 细胞毒性

[0061] 为确定观察到的 DENV 抑制效应是否源于影响病毒复制的细胞毒性，在显示病毒抑制的浓度范围内测定了化学物质对靶细胞的线粒体还原酶活性的影响。在重复集落形成测试条件的融合细胞单层中，与仅含对照的培养基相比，未观察到任何化合物的毒性特征 ($p > 0.05$，Dunnett′ s posthoc 检验的 ANOVA)，如图 4 所示。因此，DN81 肽的抑制活性并非源于毒性。

[0062] DN81 针对 DENV-2 的结合前集落形成测试

[0063] 在该测试中，将 DN81 加入到靶细胞中 1 小时后用 DENV-2 感染以确定 DN81 是否抑制通过直接作用于靶细胞的进入。在 DENV-2 感染前用 DN81 处理靶细胞未导致任何抑制迹象，表明 DN81 并非通过作用于或修饰靶细胞表面起作用，必须与病毒一起存在以抑制进入。

[0064] DN81 针对 DENV-2 的 qRT-PCR 病毒结合测试

[0065] 为直接测定 DN81 是否干扰病毒与靶细胞的结合，进行结合测试，使用 qRT-PCR 监测病毒对靶细胞的附着。在这些实验中，病毒与 DN81 在 4℃共孵育 45 分钟，在 4℃下感染靶细胞 45 分钟。从培养板上刮下细胞，离心以通过具有允许细胞而非游离病毒穿过的密度的油混合物至管底部。随后从细胞沉淀物中提取 RNA，用 DENV-2 特异性引物扩增。qRT-PCR 信号测定显示，DENV-2 和 DN81 的预孵育未抑制病毒结合，而 DENV-2 与混合的人异型抗 DENV-2 血清的预孵育导致病毒对靶细胞附着的大量减少。这表明 DN81 不能在测试的实验条件下防止病毒结合 / 附着靶细胞。

[0066] 基于上述公开的内容，显而易见，能与登革病毒 E 蛋白的区域结合的肽进入抑制剂作为本文所述抗病毒化合物开发的潜在候选物的用途将实现上文所述的目的。因此，应当理解，任何明显变化落于本发明范围内，以及特定组成元件的选择可在不偏离此处公开和描述的本发明主旨情况下确定。

序列表

<110>Florida Gulf Coast University

<120> 优化的登革病毒进入抑制肽 (DN81)

<130>202455.00038

<150>60/949,710
<151>2007-07-13

<160>1

<170>PatentIn version 3.4

<210>1
<211>28
<212>PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 人工合成的多肽

<400>1

Arg Trp Met Val Trp Arg His Trp Phe His Arg Leu Arg Leu Pro Tyr
1 5 10 15
Asn Pro Gly Lys Asn Lys Gln Asn Gln Gln Trp Pro
20 25

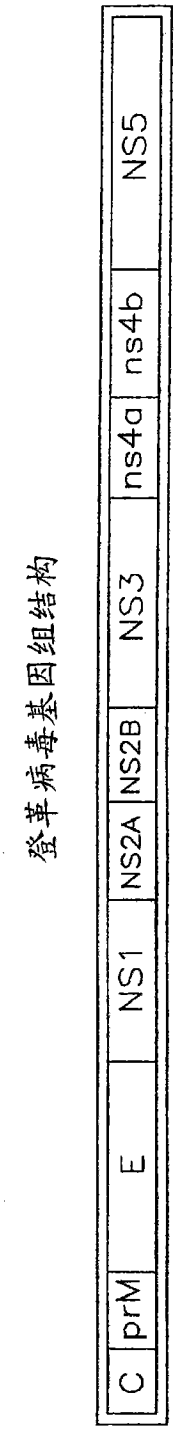

登革病毒基因组结构
C
prM
E
NS1
NS2A
NS2B
NS3
ns4a
ns4b
NS5

图 1

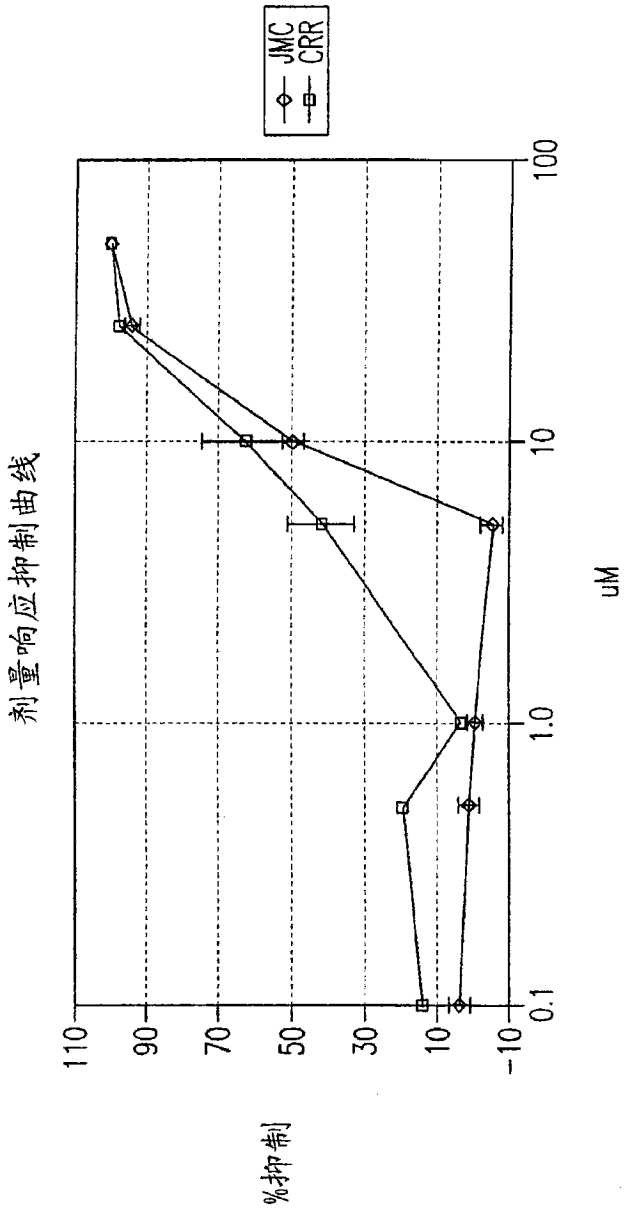

剂量响应抑制曲线
JMC
CRR
%抑制
110
90
70
50
30
10
-10
100
10
1.0
0.1
uM

图 2

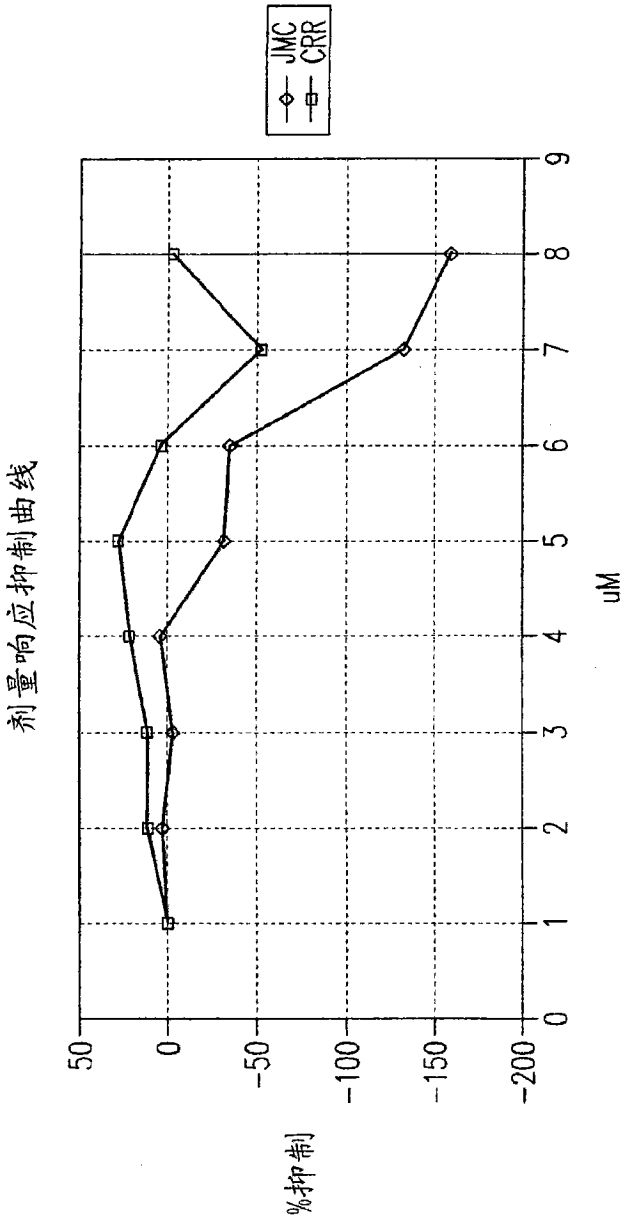


图 3

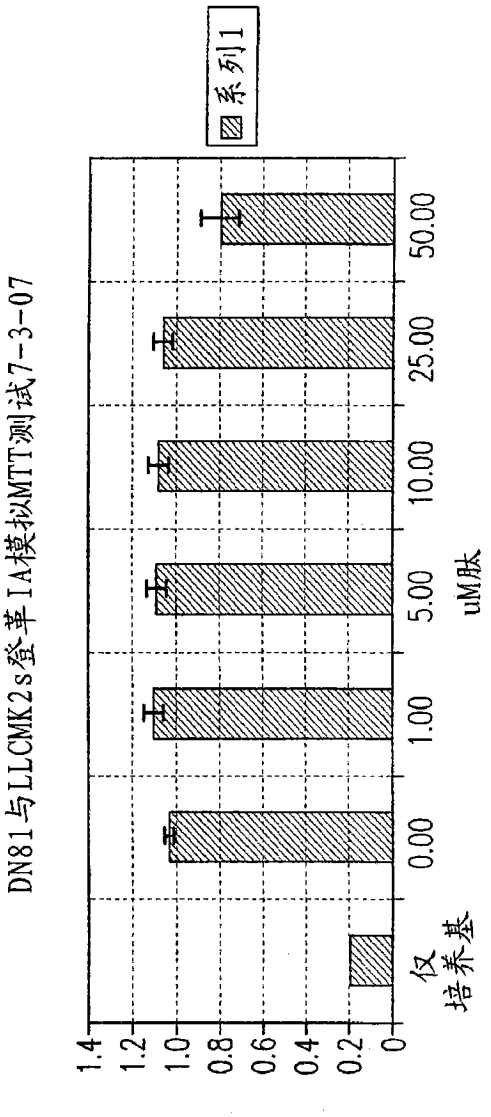

DN81与LLCMK2s登革IA模拟MTT测试7-3-07
系列1
1.4
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
仅培养基
0.00
1.00
5.00
10.00
25.00
50.00
uM肽

图 4