



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201315739 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：101123518

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 06 月 29 日

(51)Int. Cl.：

C07K14/435 (2006.01)

C12N15/12 (2006.01)

C12N15/62 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

A61P9/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/07/01

歐洲專利局

11172413.4

2011/07/05

歐洲專利局

11172681.6

(71)申請人：拜耳智慧財產有限公司(德國)BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH (DE)
德國

(72)發明人：威爾曼 安卓斯 WILMEN, ANDREAS (DE)；霍普茲 烏里奇 HAUPTS, ULRICH (DE)；佛瑞柏格 克里斯多福 FREIBERG, CHRISTOPH (DE)；托特溫 馬克 TRAUTWEIN, MARK (DE)；林登 拉斯 LINDEN, LARS (DE)；林恩偉柏 克里斯頓 LEINEWEBER, KIRSTEN (DE)；泰諾 漢娜 TINEL, HANNA (PL)

(74)代理人：黃慶源；陳彥希

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：11 共 252 頁

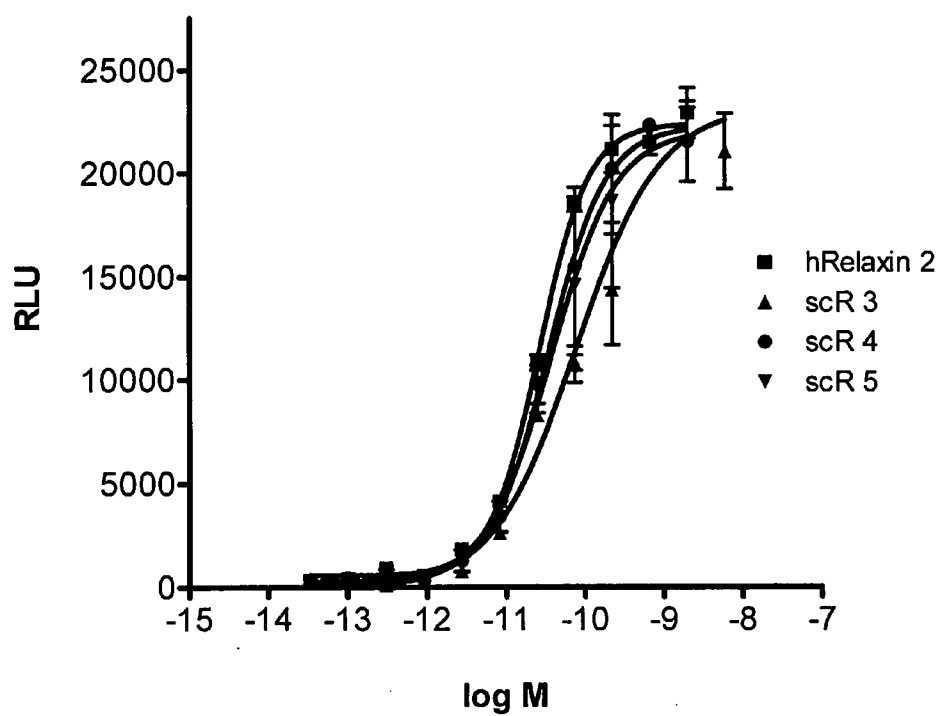
(54)名稱

鬆弛素 (RELAXIN) 融合多肽類及其用途

RELAXIN FUSION POLYPEPTIDES AND USES THEREOF

(57)摘要

本發明提供具有鬆弛素 A 鏈及鬆弛素 B 鏈非野生型陣列之鬆弛素融合多肽 A-L-B，其中 A 鏈及 B 鏈係以連接子肽連接。本發明進一步提供具有延長之半衰期之鬆弛素融合多肽。再者，本發明提供編碼上述融合多肽之核酸序列、含彼等核酸序列之載體、此等融合多肽之醫藥組成物及醫療用途



	hRelaxin 2	scR 3	scR 4	scR 5
EC50	2.630e-011	7.769e-011	3.390e-011	3.721e-011



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201315739 A1

(43)公開日：中華民國 102 (2013) 年 04 月 16 日

(21)申請案號：101123518

(22)申請日：中華民國 101 (2012) 年 06 月 29 日

(51)Int. Cl.：

C07K14/435 (2006.01)

C12N15/12 (2006.01)

C12N15/62 (2006.01)

A61K38/17 (2006.01)

A61P9/00 (2006.01)

(30)優先權：2011/07/01

歐洲專利局

11172413.4

2011/07/05

歐洲專利局

11172681.6

(71)申請人：拜耳智慧財產有限公司 (德國) BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH (DE)
德國

(72)發明人：威爾曼 安卓斯 WILMEN, ANDREAS (DE)；霍普茲 烏里奇 HAUPTS, ULRICH (DE)；佛瑞柏格 克里斯多福 FREIBERG, CHRISTOPH (DE)；托特溫 馬克 TRAUTWEIN, MARK (DE)；林登 拉斯 LINDEN, LARS (DE)；林恩偉柏 克里斯頓 LEINEWEBER, KIRSTEN (DE)；泰諾 漢娜 TINEL, HANNA (PL)

(74)代理人：黃慶源；陳彥希

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：16 項 圖式數：11 共 252 頁

(54)名稱

鬆弛素 (RELAXIN) 融合多肽類及其用途

RELAXIN FUSION POLYPEPTIDES AND USES THEREOF

(57)摘要

本發明提供具有鬆弛素 A 鏈及鬆弛素 B 鏈非野生型陣列之鬆弛素融合多肽 A-L-B，其中 A 鏈及 B 鏈係以連接子肽連接。本發明進一步提供具有延長之半衰期之鬆弛素融合多肽。再者，本發明提供編碼上述融合多肽之核酸序列、含彼等核酸序列之載體、此等融合多肽之醫藥組成物及醫療用途

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：101123518

C07K 14/435(2006.01)

※申請日：101 6 29

※IPC 分類：C12N 15/12
C12N 15/62

一、發明名稱：(中文/英文)

A61K 38/17

鬆弛素(RELAXIN)融合多肽類及其用途

A61P 9/00

RELAXIN FUSION POLYPEPTIDES AND USES
THEREOF

二、中文發明摘要：

本發明提供具有鬆弛素 A 鏈及鬆弛素 B 鏈非野生型陣列之鬆弛素融合多肽 A-L-B，其中 A 鏈及 B 鏈係以連接子胜肽連接。本發明進一步提供具有延長之半衰期之鬆弛素融合多肽。再者，本發明提供編碼上述融合多肽之核酸序列、含彼等核酸序列之載體、此等融合多肽之醫藥組成物及醫療用途

三、英文發明摘要：

The present invention provides Relaxin fusion polypeptides A-L-B with a non-wild type array of the Relaxin A-chain and Relaxin B-chain, wherein the A- and B-chains are connected by a linker peptide. The invention further provides Relaxin fusion polypeptides with extended half-life. Furthermore, the invention provides nucleic acid sequences encoding the foregoing fusion polypeptides, vectors containing the same, pharmaceutical compositions and medical use of such fusion polypeptide.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(4a)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

六、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明提供具有鬆弛素 A 鏈及鬆弛素 B 鏈非野生型陣列之鬆弛素融合多肽 A-L-B，其中 A 鏈及 B 鏈係以連接子胜肽連接。本發明進一步提供具有延長之半衰期之鬆弛素融合多肽。再者，本發明提供編碼上述融合多肽之核酸序列、含彼等核酸序列之載體、此等融合多肽之醫藥組成物及醫療用途。

【先前技術】

發明背景

為胰島素超級家族成員之鬆弛素 2 (H2 鬆弛素，RLN2)係於基因層次展現從 N 至 C 端排列之典型 B - C - A 鏈前激素結構之 2 鏈胜肽。此超級家族之其他成員，由人類 7 個基因編碼，為鬆弛素基因 RLN 1、RLN3、及類胰島素胜肽基因 INSL3、INSL4、INSL5、與 INSL6。此家族成員間之整體序列同源性低；然而，親緣關係分析顯示彼等基因係從 RLN3 祖先基因進化形成[Hsu, S. Y. (2003)；Wilkinson, T. N. et al. (2005)]。成熟蛋白質之分子量約 6000 Da，為前激素-轉化酶 1 (PC1)與 2 (PC2)催化前激素後之酵素切割產物[Hudson P. et al. (1983)]。由此產生之 A 鏈與 B 鏈以兩個分子間半胱胺酸橋鍵連結；A 鏈具有額外之分子內雙硫鍵。

鬆弛素經由多個路徑對各種細胞類型啟動多效性作用；其經由結合於 I 類(類視紫素)稱為 LGR7 之 G 蛋白

偶聯受體(富含白胺酸之 G 蛋白偶聯受體 7)，亦稱為 RXFP1 (鬆弛素家族胜肽 1 受體)，而賦予其活性，及顯著降低對 LRG8/RXFP2 (鬆弛素家族胜肽 2 受體)之親和力 [Kong RC et al. (2010) Mol Cell Endocrinol. 320:1-15]。於鬆弛素分子內，B 鏈內之胺基酸特徵結構 (motif)(Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X)[Schwabe and Büllesbach (2007) Adv Exp Med Biol. 612:14-25 與 Büllesbach and Schwabe J Biol Chem. 2000 Nov 10; 275(45):35276-80]保存於所有鬆弛素胜肽中，及為彼等胜肽與相應受體相互作用之關鍵。鬆弛素與 LGR7/RXFP1 之結合導致腺核苷酸環化酶之活化及第二信使分子 cAMP 之增加。經由此機制，例如，鬆弛素 2 傳介大鼠心臟心房利尿肽之釋出 [Toth, M. et al. (1996)]。鬆弛素 2 對大鼠心房肌細胞之正面影響心肌收縮作用亦已被證實 [Piedras-Renteria, E. S. et al. (1997)]。被鬆弛素/LGR7 複合物活化之其他訊息傳遞分子為磷酸肌醇-3 激酶、酪胺酸激酶、與磷酸二酯酶 [Bartsch, O. et al. (2001), Bartsch, O. et al. (2004)]。被此系統活化之額外訊息傳遞路徑包括於大鼠及天竺鼠心臟中導致環狀 GMP 量增加之一氧化氮 (NO) 路徑 [Bani-Sacchi, T. et al. (1995)]。

鬆弛素表現多效性激素之作用 [Dschietzig T. et al. (2006)]，具有對例如肺臟、腎臟、腦、及心臟器官之生物活性。於各種動物疾病模式以及臨床研究中，鬆弛素

之強大抗纖維化與血管擴張劑活性為使用此胜肽獲得正面作用之最明顯原由[McGuane J.T. et al. (2005)]。於病理情況下，RLN2 在心血管系統中具有多種有益作用；於各種疾病生理過程期間，維持組織之自身穩定並保護受傷害之心肌；其展現顯著之血管擴張效應，例如，影響齧齒動物冠狀動脈中[Nistri, S. et al. (2003)]及其他器官血管床中之流動與血管擴張。於自發性高血壓大鼠中，RLN2 降低血壓，一種經由增加 NO 生成所傳介之作用。

鬆弛素 2 之心臟保護活性已於不同動物模式例如天竺鼠、大鼠及豬中被評估[Perna A.M. et al. (2005), Bani, D. et al. (1998)]。RLN2 改善心肌傷害、炎性細胞浸潤及隨後之纖維化，從而減輕嚴重之心室功能異常[Zhang J. et al. (2005)]。

鬆弛素 2 展現強大抗纖維化活性。於受傷組織中，纖維組織母細胞之活化與增殖導致膠原蛋白生成增加及間質纖維化。由於超過生物力學負荷而增加心臟之纖維化，影響心室功能異常、重塑、及心律不整。於動物模式中，鬆弛素 2 之持續灌流抑制或甚至逆轉由心肌病變、高血壓、異丙基腎上腺素誘發之心臟毒素、糖尿病性心肌病變及心肌梗塞引起之心臟功能障礙。此纖維增生之抑制或已建立纖維化之逆轉可減少心室硬化及改善舒張期功能。值得注意的是，雖然鬆弛素 2 減少異常膠原蛋白之累積，惟其不影響健康組織之基礎膠原蛋白含

量，突顯其於治療用途之安全性。

鬆弛素 2 已於數個臨床研究中被測試，為治療急性心臟衰竭病患非常有前景成果之多效性血管擴張劑。於彼等研究中，鬆弛素 2 與有利之減輕呼吸困難及其他臨床結果相關[Teerlink J.R. et al. (2009), Metra M. et al. (2010)]。

由於鬆弛素受限之體內半衰期，病患之治療必須每隔 14 至 21 天重複一次，因此化合物投與必須連續灌流進行至少 48 小時。

再者，鬆弛素 2 亦可用於治療例如胰臟炎、炎症相關疾病如類風溼性關節炎、及癌症[Cosen-Binker L.I. et al. (2006) Santora K. Et al. (2007)]，或硬皮病、肺、腎、與肝纖維化[Bennett RG. (2009)]等疾病。鬆弛素 2 減少人類 MDA-MB-231 乳癌細胞異種移植腫瘤之生長[Radestock Y, Hoang-Vu C, Hombach-Klonisch S. (2008) Breast Cancer Res. 10:R71]。

利用化學方法合成鬆弛素 2 很困難；由於 B 鏈溶解度低及需要於 A 與 B 鏈間費力、特定引入半胱胺酸橋鍵，因此利用彼等方法所得活性胜肽之產率極低[(Barlos K.K. et al. (2010))]。替代地，可進行鬆弛素 2 之重組表現。為了容許後轉譯修飾期間預前胜肽(prepro-peptide)之切割及成熟與生物活性胜肽之分泌，乃以編碼前激素-轉化酶 1 及/或 2 之表現建構體，例行地共轉染表現宿主細胞[(Park J.I. et al. (2008))]。然而，異源細胞中預前胜

肽之內切蛋白水解處理之效率，常顯著地限制生物活性分子之生成[Shaw J.A. et al. (2002)]。

因此，產生展現完整生物活性之由特定蛋白酶傳介之無關內切蛋白水解處理，並能使用異源表現系統以顯著收率產生之鬆弛素分子，將具有很大優勢。

就人類胰島素而言，已產生由不能切割之多肽連接胰島素 B 鏈與胰島素 A 鏈之單鏈變異體[Rajpal G. et al. (2009)]。對於彼等變異體，內切蛋白水解處理並非必要。

【發明內容】

令人驚奇地，申請人等鑑定出一種鬆弛素變異體，其中定名為 A 鏈及 B 鏈的兩個活性鏈方位對調，及以連接子胜肽取代可切割之 C 鏈。如於圖 1 所示，修飾分子鏈之方位為：A 鏈 - 連接子胜肽 - B 鏈，而非基因決定之編碼鬆弛素單鏈之方位，即 B 鏈 - C 鏈 - A 鏈。所得分子展現完整之生物活性，無關任何內切蛋白水解處理。此由本發明提供之新穎單鏈鬆弛素變異體因而解決低表現產率之問題或以處理蛋白酶共轉染之需求。

於人體中，靜脈給與之鬆弛素 2 半衰期不到 10 分鐘[Dschietzig T. et al. (2009)]；因而，於臨床試驗中，鬆弛素 2 必須持續投與超過 48 小時。因此，增進鬆弛素生物半衰期可能具極大優勢。

增進生物半衰期可如下進行：利用化學修飾法，例如感興趣多肽之聚乙二醇化或羥乙基澱粉化(HESylation)、額外、非天然 N-糖基化部位之引入；或

者利用基因融合法，使此多肽分別與其他分子例如抗體之免疫球蛋白 Fc 片段、轉鐵蛋白、白蛋白、體內結合於其他傳介較長半衰期分子之結合模組、或其他蛋白質。本發明提供具增進半衰期之融合於抗體 Fc 部分之單鏈鬆弛素變異體。令人驚奇地，彼等變異體顯示野生型鬆弛素範圍內之生物活性。

發明概述

本發明係有關融合多肽，下文中亦稱為單鏈鬆弛素 (scRelaxin)。

鬆弛素生產之現行標準係化學合成此分子，為複雜及昂貴之步驟。由於鬆弛素進行後轉譯修飾之事實，特別是利用前激素轉化酶 1 與前激素轉化酶 2 之預前蛋白質之切割，選擇適當表現系統對重組表現是必須的。屬於胰島素超級家族蛋白質之內切蛋白水解處理時常限制異源細胞之生產生物活性分子。欲避免鬆弛素之內切蛋白水解處理，本發明之融合多肽為其中定名 A 鏈及 B 鏈的鬆弛素之二活性鏈之基因編碼之方位係反向之分子，其中 A 鏈及 B 鏈由連接子胜肽連接。詳言之，本發明提供之鬆弛素變異體中，DNA 片段之方位為：A 鏈 - 胜肽連接子 - B 鏈，而非編碼鬆弛素功能區之個別 DNA 片段之基因決定方位，即 B 鏈 - C 鏈 - A 鏈；如此產生其中鬆弛素 A 鏈之羧基端融合於連接子多肽 L 之胺基端，該連接子多肽 L 之羧基端融合於鬆弛素 B 鏈胺基端之單鏈鬆弛素，定名為 A-L-B (參見圖 1 說明)；所得分子展

現與野生型鬆弛素相似之生物活性，惟其表現與內切蛋白水解處理無關。

本發明之一具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中 A 包含鬆弛素 A 鏈多肽或其功能性變異體，B 包含鬆弛素 B 鏈多肽或其功能性變異體，L 為連接子多肽。

於進一步具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含鬆弛素 2A 鏈多肽或其功能性變異體，鬆弛素 B 鏈多肽包含鬆弛素 2B 鏈多肽或其功能性變異體。

於較佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含人類最小鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 118)或其功能性變異體，或包含人類鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體。

於較佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 B 鏈多肽包含人類鬆弛素 2B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體。

於更佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含人類最小鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 118)或其功能性變異體，或包含人類鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體及鬆弛素 B 鏈多肽包含人類鬆弛素 2B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體。

於又更佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽為人類鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體及鬆弛素 B 鏈多肽為人類鬆弛素 2B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體。

於一具體實例中，上述融合多肽 A-L-B 之連接子多肽 L 由 6-14 個胺基酸殘基長之多肽構成；進一步較佳者為 7-13 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L；進一步較佳者為 8-12 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L；又更佳者為 7-11 或 9-11 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L；又更佳者為 9 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L；於進一步較佳具體實例中，多肽連接子 L 長度之整數係選自包括整數 6、7、8、9、10、11、12、13 與 14 之組群。

連接子多肽 L 可由任何胺基酸組成；於較佳具體實例中，連接子多肽 L 包含至少一個 Gly、Ser、Arg、Leu、Cys、Ala、Leu 及/或 Lys 殘基；於更佳具體實例中，連接子多肽 L 包含 Gly 與 Ser 殘基；進一步較佳具體實例為包含 Gly 與 Ser 殘基及具有至少 3 對 1 之 Gly 對 Ser 比之連接子 L。

於進一步具體實例中，上述連接子 L 包含至少一個供半衰期延長基團共價偶合之連接部位。於本發明具體實例中，上述連接部位係 Lys 或 Cys 殘基。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，及

L 係 6-14、7-13、8-12、7-11、9-11、或 9 個胺基酸殘基

長之連接子多肽。該連接子胜肽 L 可由任何胺基酸組成。於較佳具體實例中，連接子多肽 L 包含至少一個 Gly、Ser、Arg、Leu、Cys、Ala、Leu 及/或 Lys 殘基。於更佳具體實例中，連接子多肽 L 包含 Gly 與 Ser 殘基。進一步較佳具體實例為包含 Gly 與 Ser 殘基及具有至少 3 對 1 之 Gly 對 Ser 比之連接子 L。於進一步具體實例中，上述連接子 L 包含至少一個供非蛋白性質聚合物半衰期延長基團共價偶合之連接部位。於本發明具體實例中，上述連接部位係 Lys 或 Cys 殘基。

本發明之較佳具體實例為進一步包含半衰期延長基團之融合多肽 A-L-B。

於進一步具體實例中，上述融合多肽具有鬆弛素活性。於進一步較佳具體實例中，該鬆弛素活性為鬆弛素受體 LGR7 之活化。於又進一步較佳具體實例中，鬆弛素受體 LGR7 之活化係利用實驗方法中揭示之方法測定。

於另一態樣中，本發明提供編碼上述融合多肽之多核苷酸。此類多核苷酸可進一步包含容許分泌融合多肽之訊息胜肽之編碼序列；亦包括含有為得到此類融合多肽之多核苷酸之載體；適當載體為，舉例而言，表現載體。本發明之進一步具體實例為包含編碼上述融合多肽之多核苷酸、載體、或表現載體之宿主細胞。本發明之宿主細胞可為真核細胞或原核細胞。真核細胞可為哺乳動物細胞或酵母或昆蟲細胞，較佳為哺乳動物細胞。原

核細胞可為，舉例而言，大腸桿菌細胞。

於另一具體實例中，本發明提供包含上述融合多肽之醫藥組成物；該組成物可經配製以供靜脈內、腹膜內或皮下投與。

本發明之另一具體實例提供作為藥劑用之醫藥組成物或融合多肽。進一步具體實例為使用醫藥組成物或融合多肽治療心血管疾病、胰臟炎、炎症、癌症、硬皮病、肺、腎臟、與肝臟纖維化之用途。

發明之詳細說明

定義：

"胺基酸殘基"一詞意指包含於由丙胺酸(Ala 或 A)、半胱胺酸(Cys 或 C)、天冬胺酸(Asp 或 D)、麩胺酸(Glu 或 E)、苯丙胺酸(Phe 或 F)、甘胺酸(Gly 或 G)、組胺酸(His 或 H)、異白胺酸(Ile 或 I)、離胺酸(Lys 或 K)、白胺酸(Leu 或 L)、甲硫胺酸(Met 或 M)、天冬醯胺(Asn 或 N)、脯胺酸(Pro 或 P)、麩胺醯胺(Gln 或 Q)、精胺酸(Arg 或 R)、絲胺酸(Ser 或 S)、蘇胺酸(Thr 或 T)、纈胺酸(Val 或 V)、色胺酸(Trp 或 W)、與酪胺酸(Tyr 或 Y)殘基構成之組群中之胺基酸殘基。

"鬆弛素之活性"或"鬆弛素活性"等詞係界定為鬆弛素或其變異體活化刺激性 G 蛋白 Gs，從而隨後產生第二信使環 AMP，及/或刺激 PI3 激酶之能力。鬆弛素或其變異體結合 LGR7，導致刺激性 G 蛋白 Gs 之細胞內活化，結果隨後產生第二信使環 AMP (cAMP)。然而，

cAMP 產生係時間依賴性之雙相反應。於初始短暫 Gs-腺核苷酸環化酶-傳介之 cAMP 反應後，受體訊號轉換為抑制性 G 蛋白之活化，並由此成為 PI3 激酶傳介之反應 [Halls M.L., Bathgate R.A., Summers, R.J. (2005) Signal Switching after Stimulation of LGR7 Receptors by Human Relaxin 2. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1041:288-291]。

“半衰期延長基團”一詞係指直接或經由連接子，共價連接(“共軛結合”)於鬆弛素融合多肽之醫藥上可接受基團、功能區、或“媒介物(vehicle)”，相較於未共軛結合型之鬆弛素融合多肽，能防止或減輕鬆弛素融合多肽之體內蛋白水解降解或其他減少活性之化學修飾，增加鬆弛素融合多肽之半衰期或其他藥物動力學性質例如惟不限於增加吸收率、降低毒性、增進溶解度、增加生物活性及/或標靶選擇性，增加鬆弛素融合多肽之可製造性，及/或降低免疫原性。“半衰期延長基團”一詞包括非蛋白性質半衰期延長基團，例如 PEG 或 HES；及蛋白性質半衰期延長基團，例如血清白蛋白、轉鐵蛋白或 Fc 功能區。

“多肽”、“胜肽”及“蛋白質”於本文中可交換使用及包括經由胜肽鍵連接之兩個或兩個以上胺基酸之分子鏈。彼等詞並非指特定長度之產物；其包括多肽之後轉譯修飾，例如，糖基化、乙醯化、磷酸化等。此外，蛋白質片段、類似物、突變或變異體蛋白、融合蛋白均包含於多肽之含義內。彼等詞亦包括其中包含可合成、或

使用已知蛋白質工程技術重組表現之一個或一個以上胺基酸類似物或非標準或非天然胺基酸之分子。此外，本發明之融合蛋白可利用熟知之有機化學技術如本文所述予以衍生化。

“功能性變異體”一詞係指至少保留若干其天然生物活性之變異體多肽。於根據本發明鬆弛素 2 變異體之情形下，功能性變異體係至少顯示若干其天然活性(例如鬆弛素受體 LGR7 之活化)之變異體。鬆弛素受體 LGR7 之活化可利用實驗方法中揭示之方法測定。

論及本發明多肽時之“片段”、“變異體”、“衍生物”及“類似物”等詞包括保留相應野生型鬆弛素多肽之至少若干受體結合性質之任何多肽。本發明之多肽片段包括蛋白水解片段、缺失片段、以及由於胺基酸之置換、缺失、或插入而具有改變胺基酸序列之多肽。變異體可天然發生或非天然發生。非天然發生變異體可使用技藝已知之突變技術產生。變異體多肽可包含保守性或非保守性胺基酸之置換、缺失、或加成。變異體多肽於本文中亦係指“多肽類似物”。本文所用多肽之“衍生物”係指具有經由官能性側基團反應而化學衍生之一個或一個以上殘基之主題多肽。“衍生物”亦包括含有二十個標準胺基酸之天然發生之一個或一個以上胺基酸衍生物之彼等多肽。舉例而言，4-羥脯胺酸可置換脯胺酸，5-羥離胺酸可置換離胺酸，3-甲基組胺酸可置換組胺酸，高絲胺酸可置換絲胺酸，及鳥胺酸可置換離胺酸。

“融合蛋白”一詞係指包含衍生自一個以上親代蛋白質或多肽之多肽成分之蛋白質，及/或包含衍生自一個或一個以上不呈其野生型方位排列之親代蛋白質或多肽之蛋白質功能區之融合蛋白。一般而言，融合蛋白係自融合基因表現，其中編碼一蛋白質多肽序列之核苷酸序列被附加於編碼不同蛋白質多肽序列之核苷酸序列之框架中，及視需要以連接子或延伸子隔開；然後利用重組宿主細胞可呈單一蛋白質表現該融合基因。

“核苷酸序列”或“多核苷酸”等詞意指兩個或兩個以上核苷酸分子之連續伸展。核苷酸序列可得自基因體、cDNA、RNA、半合成、合成來源、或其任何組合。

“EC₅₀” (半最大有效濃度)一詞係指治療化合物於若干特定暴露時間後，誘發基線與最大值間之一半反應之有效濃度。

與特定物質有關所用“免疫原性”一詞意指該物質從免疫系統誘發反應之能力。免疫反應可為細胞或抗體傳介之反應[關於免疫原性之進一步界定，參見，例如 Roitt: Essential Immunology (8th Edition, Black-well)]。通常，抗體反應性減少為免疫原性降低之徵兆。降低之免疫原性可利用此項技藝中已知之任何(例如體內或體外)適當方法測定。

“聚合酶鏈反應”或“PCR”等詞通常係指體外擴增所需核苷酸序列之方法，例如，見述於 US Pat. No. US 4,683,195 與 US 4,683,195 者。通常，PCR 方法涉及使用

能優先與模板核酸雜交之寡核苷酸引子之引子延伸合成重複循環。

"載體"一詞係指質體或其他核苷酸序列，其能於宿主細胞內複製或被嵌入宿主細胞基因體中，因此可用於聯合相容宿主細胞(載體-宿主系統)執行不同功能：促進核苷酸序列之轉殖，亦即產生可用量之序列；引導由序列編碼基因產物之表現及將核苷酸序列嵌入宿主細胞基因體中。載體視其欲執行之功能而含有不同成分。

"細胞"、"宿主細胞"、"細胞株"及"細胞培養物"於本文中可交換使用，所有此類詞應被理解為包括從細胞生長或培養產生之後代。

"功能性體內半衰期"一詞係呈其正常含義使用，亦即仍有 50%多肽生物活性存在身體/標靶器官中之時間，或多肽活性為 50%初始值之時間。

測定功能性體內半衰期之替代法，可測定"血清半衰期"，亦即被清除之前，血漿或血流中有 50%多肽循環之時間。血清半衰期之測定常比測定功能性體內半衰期更簡單，血清半衰期之大小通常為功能性體內半衰期大小之良好指標。血清半衰期之替代用詞包括"血漿半衰期"、"循環半衰期"、"血清清除率"、"血漿清除率"及"清除率半衰期"。多肽之清除係利用一或多個網狀內皮組織系統(RES)、腎臟、脾臟或肝臟之作用，利用傳介排除之組織因子、SEC 受體或其他受體，或利用特定或非特定之蛋白質水解。通常，清除率視大小(相對於腎小球濾過之

阻隔)、電荷、附加之碳水化合物鏈、及蛋白質細胞受體之存在而定。欲保留之功能性通常係選自受體結合或受體活化。功能性體內半衰期及血清半衰期可利用此項技藝中已知之任何適當方法測定，例如，通常涉及下述步驟：適當投與哺乳動物合適劑量之治療胺基酸序列或化合物；定期自該哺乳動物收集血液試樣或其他試樣；測定該血液試樣中本發明胺基酸序列或化合物之含量或濃度；及從如此得到之數據(作圖)計算相較於給藥時之初始濃度，本發明胺基酸序列或化合物之含量或濃度降低50%之時間。謹此述及參考標準手冊，例如 Kenneth, A et al: Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists 及 Peters et al, Pharmacokinetic analysis: A Practical Approach (1996)；亦可參考 Marcel Dekker 發行之 "Pharmacokinetics", M Gibaldi & D Perron, 2nd Rev. edition (1982)。

“醣基化”為一種化學修飾，其中係添加糖基團至多肽之特定部位。多肽之醣基化一般為 N-連接或 O-連接。N-連接係指碳水化合物基團連接至天冬醯胺殘基之側鏈。三肽序列，Asn-X-Ser 及 Asn-X-Thr (“N-X-S/T”)，其中 X 為脯胺酸以外之任何胺基酸，係供酵素性連接碳水化合物基團至天冬醯胺側鏈之辨識序列。因此，多肽中任一彼等三肽序列(或特徵結構)之存在，即產生潛在之 N-連接醣基化部位。O-連接係指碳水化合物基團連接至絲胺酸與蘇胺酸之羥基氧。

"單離"之融合多肽為已經鑑定及與表現其之細胞成分分開者。細胞之污染成分係將干擾融合多肽之診斷或治療使用之物質，可包括酵素、激素、及其他蛋白性質或非蛋白性質溶質。於較佳具體實例中，融合多肽係純化至(1)例如以洛瑞(Lowry)法、紫外線-可見光分光術或以 SDS-毛細管凝膠電泳(例如於 Caliper LabChip GXII，GX 90 或 Biorad Bioanalyzer 裝置上)測定之大於 95% 重量百分比融合多肽，及於進一步較佳具體實例中大於 99% 重量百分比；(2)足以得到至少 15 個殘基之 N-端或內部胺基酸序列之程度；或(3)於還原或非還原條件下，使用考馬斯(Coomassie)藍或較佳為銀染，經由 SDS-PAGE 呈均一性。然而，通常，單離之融合多肽將由至少一個純化步驟製備。

綜述

本申請案提供一種 A-L-B 融合多肽，本文中亦使用之術語係縮寫為 scRelaxin 或 scR 之單鏈鬆弛素，其中“A”係鬆弛素 A 鏈，“B”係鬆弛素 B 鏈及“L”為連接子多肽。本申請案敘述一種增進之鬆弛素分子，其中 A 鏈之 C 端經由多肽連接子連接至 B 鏈之 N 端而使該融合多肽得以呈功能性 scRelaxin 被表現。本申請案部分係有關出乎意外地發現 A-L-B 融合多肽可不必如有關野生型鬆弛素已知之需要內切蛋白水解前激素處理，而可被功能性表現。

鬆弛素之單鏈形式

鬆弛素 A 及 B 功能區：

本發明之一具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中 A 包含鬆弛素 A 鏈多肽或其功能性變異體，B 包含鬆弛素 B 鏈多肽或其功能性變異體及 L 為連接子多肽。

本發明之進一步具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中 A 包含鬆弛素 A 鏈多肽或其功能性變異體，B 包含鬆弛素 B 鏈多肽或其功能性變異體及 L 為連接子多肽；其中鬆弛素係選自由鬆弛素 1、鬆弛素 2、鬆弛素 3、INSL3、INSL4、INSL5、與 INSL6 構成之鬆弛素組群。於進一步較佳具體實例中，該鬆弛素係鬆弛素 2 或鬆弛素 3。於進一步具體實例中，該上述鬆弛素為人類鬆弛素。

於進一步具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含鬆弛素 2 A 鏈多肽或其功能性變異體。於進一步具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 B 鏈多肽包含鬆弛素 2 B 鏈多肽或其功能性變異體。

於進一步具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含鬆弛素 2A 鏈多肽或其功能性變異體及鬆弛素 B 鏈多肽包含鬆弛素 2B 鏈多肽或其功能性變異體。

於較佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含人類最小鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 118)或其功能性變異體，或包含人類鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體。於較佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 B 鏈多肽包含人類鬆弛素 2B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)

或其功能性變異體。

於更佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含人類最小鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 118)或其功能性變異體，或包含人類鬆弛素 2A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，及鬆弛素 B 鏈多肽包含人類鬆弛素 2B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體。

於進一步具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含鬆弛素 3 A 鏈多肽或其功能性變異體。於進一步具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 B 鏈多肽包含鬆弛素 3 B 鏈多肽或其功能性變異體。

於進一步具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含人類鬆弛素 3 A 鏈多肽(SEQ ID NO:124)或其功能性變異體。於進一步具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 B 鏈多肽包含人類鬆弛素 3 B 鏈多肽(SEQ ID NO:125)或其功能性變異體。於較佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽包含人類鬆弛素 3 A 鏈多肽(SEQ ID NO:124)或其功能性變異體及鬆弛素 B 鏈多肽包含人類鬆弛素 3 B 鏈多肽(SEQ ID NO:125)或其功能性變異體。

於上述融合多肽 A-L-B 之較佳具體實例中，相較於野生型鬆弛素 A 及 B 鏈，鬆弛素 A 或 B 鏈之功能性變異體分別具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸之替換、插入、及/或缺失。進一步較佳者為上述鬆弛素 2 B 變異體進一步包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X。

鬆弛素 A 及 B 鏈變異體為此項技藝中已知。已充分理解特徵之鬆弛素結合部位幾何學提供熟悉技藝人士設計鬆弛素 A 及 B 鏈變異體之指引，例如，關於鬆弛素 B 鏈之變化，參見 Büllersbach and Schwabe J Biol Chem. 2000 Nov 10; 275(45):35276-80；關於鬆弛素 A 鏈與“最小”鬆弛素 A 鏈之變化，參見 Hossain et al. J Biol Chem. 2008 Jun 20; 283(25):17287-97。舉例而言，就保守之鬆弛素 2 B 特徵結構(Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X)而言，X 代表能形成螺旋結構例示，以選擇保守特徵結構中之適當胺基酸 X 作為於鬆弛素 B 鏈表面形成三角形接觸區之三個界定胺基酸之胺基酸[Büllersbach and Schwabe J Biol Chem. 2000 Nov 10; 275(45)]。

於又更佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體及鬆弛素 B 鏈多肽係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體。於又更佳具體實例中，人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)之功能性變異體，相較於 SEQ ID NO: 117，為具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換、缺失及/或插入之功能性變異體。進一步較佳者為人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)之功能性變異體，其中該功能性變異體，相較於 SEQ ID NO: 119，具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換、缺失及/或插入。又進一步較佳者為進一步包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-

Ile/Val-X 之上述人類鬆弛素 2 B 變異體。

於又更佳具體實例中，A-L-B 之鬆弛素 A 鏈多肽係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其與 SEQ ID NO: 117 相較時，具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸交換之功能性變異體，及鬆弛素 B 鏈多肽係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其與 SEQ ID NO: 119 相較時，具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸交換且包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X 之功能性變異體。

熟習此項技藝者知道如何得到功能性變異體；功能性變異體之實例揭示於關於鬆弛素 A 鏈之 Hossain et al J Biol Chem. 2008 Jun 20; 283(25):17287-97，或美國專利公告案 No. US2011/0130332；及關於鬆弛素 B 鏈之 Schwabe and Büllsbach (2007) Adv Exp Med Biol. 612:14-25 及 Büllsbach and Schwabe J Biol Chem. 2000 Nov 10;275(45):35276-80。

連接子 L：

於一具體實例中，上述融合多肽 A-L-B 之連接子多肽 L 由 6-14 個胺基酸殘基長之多肽構成；進一步較佳者為 7-13 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L；進一步較佳者為 8-12 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L；又更佳者為 7-11 或 9-11 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L；又更佳者為 9 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L；於進一步較佳具體實例中，多肽連接子 L 長度之整數係選自包括整數 6、

7、8、9、10、11、12、13 與 14 之組群。

連接子之胺基酸組成可不同，惟以展現低免疫原性評分之連接子較佳。連接子之實例為熟習此項技藝者熟知及包含例如(GGGS)_n、(GGSG)_n等序列，其中 n 為整數。連接子胜肽 L 可由任何胺基酸組成。於較佳具體實例中，連接子多肽 L 包含至少一個 Gly、Ser、Arg、Cys、Leu 及/或 Lys 殘基。於更佳具體實例中，該連接子多肽 L 包含 Gly 與 Ser 殘基。於進一步較佳具體實例中，該連接子胜肽 L 為富含甘胺酸之連接子，舉例而言例如包含如揭示於美國專利案 No. 7,271,149 之[GGGGS]_n序列之胜肽。於其他具體實例中，係使用例如美國專利案 No. 5,525,491 中所述之富含絲胺酸之連接子。

進一步較佳具體實例為包含 Gly 與 Ser 殘基且 Gly 對 Ser 之比例至少為 3 比 1 之連接子 L。

於進一步具體實例中，上述連接子 L 包含至少一個供非蛋白質質聚合物半衰期延長基團共價偶合之連接部位。於本發明具體實例中，上述連接部位為 Lys 或 Cys 殘基。

此類連接子之實例為

[GlyGlyGlySerGlyGly](SEQ ID NO: 137)、

[GlyGlyGlySerGlyGlyGly](SEQ ID NO: 138)、

[GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly](SEQ ID NO: 139)、

[GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySer](SEQ ID NO: 140)、

[GlyGlyGlySerGlyCysGlyGlySerGly](SEQ ID NO: 141)、

[GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGly](SEQ ID NO: 143)、

[LysArgSerLeuSerArgLysLysArg](SEQ ID NO: 144)、

[GlyGlyGlySerGlyLysGlyGlySerGly](SEQ ID NO: 142)、

[GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly](SEQ ID NO: 145)、與 [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGly](SEQ ID NO: 146)。

一般考量可利用此項技藝中已知之例行方法決定最適連接子之長度及胺基酸組成。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，或其相較於 SEQ ID NO: 117 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換之功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，或其相較於 SEQ ID NO: 119 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換且包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X 之功能性變異體，及

L 係 6-14、7-13、8-12、7-11、9-11、或 9 個胺基酸殘基長之連接子多肽。

於較佳具體實例中，上述融合多肽 A-L-B 之連接子多肽 L 為 7-11、或 9-11 個胺基酸殘基長。又更佳者為 9 個胺基酸殘基長之多肽連接子 L。於進一步較佳具體實例中，多肽連接子 L 長度之整數係選自包括整數 6、7、

8、9、10、11、12、13 與 14 之組群。連接子多肽 L 可由任何胺基酸組成。於較佳具體實例中，連接子多肽 L 為可彎曲之連接子。

於較佳具體實例中，連接子多肽 L 包含至少一個 Gly、Ser、Arg、Leu、Cys、及/或 Lys 殘基。於進一步較佳具體實例中，連接子多肽 L 由選自包括 Gly、Ser、Arg、Leu、Cys、與 Lys 殘基之胺基酸組群之胺基酸殘基構成。

於更佳具體實例中，連接子多肽 L 包含 Gly 與 Ser 殘基。於進一步較佳具體實例中，連接子多肽 L 為富含甘胺酸之連接子，例如包含如揭示於美國專利案 No. 7,271,149 之 $[GGGGS]_n$ 序列之胜肽。於其他具體實例中，係使用如美國專利案 No. 5,525,491 中所述之富含絲胺酸之連接子胜肽 L。

進一步較佳具體實例為包含 Gly 與 Ser 殘基且 Gly 對 Ser 之比例至少為 2 比 1 之連接子多肽 L。

進一步較佳具體實例為包含 Gly 與 Ser 殘基且 Gly 對 Ser 之比例至少為 3 比 1 之連接子多肽 L。

進一步較佳具體實例為包含 Gly 與 Ser 殘基且 Gly 對 Ser 之比例至少為 1 比 2 之連接子多肽 L。

進一步較佳具體實例為包含 Gly 與 Ser 殘基且 Gly 對 Ser 之比例至少為 1 比 3 之連接子多肽 L。

進一步較佳具體實例為具有上述較佳長度之連接子多肽 L，其中連接子 L 之胺基酸殘基除了 4 個之外，全

部由 Gly 及/或 Ser 殘基構成，其餘 4 個胺基酸殘基則係選自天然胺基酸之組群。

進一步較佳具體實例為具有上述較佳長度之連接子多肽 L，其中連接子 L 之胺基酸殘基除了 3 個之外，全部由 Gly 及/或 Ser 殘基構成，其餘 3 個胺基酸殘基則係選自天然胺基酸之組群。

進一步較佳具體實例為具有上述較佳長度之連接子多肽 L，其中連接子 L 之胺基酸殘基除了 2 個之外，全部由 Gly 及/或 Ser 殘基構成，其餘 2 個胺基酸殘基則係選自天然胺基酸之組群。

進一步較佳具體實例為具有上述較佳長度之連接子多肽 L，其中連接子 L 之胺基酸殘基除了 1 個之外，全部由 Gly 及/或 Ser 殘基構成，其餘胺基酸殘基則係選自天然胺基酸之組群。

於進一步較佳具體實例中，上述天然胺基酸組群不包括脯胺酸胺基酸。

進一步較佳具體實例為具有上述較佳長度之連接子多肽 L，其中連接子 L 之胺基酸殘基除了 1 個之外，全部由 Gly 及/或 Ser 構成，其餘胺基酸殘基則係選自 Cys 與 Lys 之組群。

於進一步較佳具體實例中，連接子多肽 L 係由選自包括 Gly 與 Ser 殘基之胺基酸殘基組群之胺基酸殘基構成。

於進一步較佳具體實例中，連接子 L 係由選自包括

Gly 與 Ser 殘基之胺基酸組群之胺基酸殘基構成，其中 Gly 對 Ser 之比例至少為 2 比 1。

於進一步較佳具體實例中，連接子 L 係由選自包括 Gly 與 Ser 殘基之胺基酸組群之胺基酸殘基構成，其中 Gly 對 Ser 之比例至少為 3 比 1。

於進一步較佳具體實例中，連接子 L 係由選自包括 Gly 與 Ser 殘基之胺基酸組群之胺基酸殘基構成，其中 Gly 對 Ser 之比例至少為 1 比 2。

於進一步較佳具體實例中，連接子 L 係由選自包括 Gly 與 Ser 殘基之胺基酸組群之胺基酸殘基構成，其中 Gly 對 Ser 之比例至少為 1 比 3。

於進一步具體實例中，上述連接子 L 包含至少一個供非蛋白質質聚合物半衰期延長基團共價偶合之連接部位。於本發明具體實例中，上述連接部位為 Lys 或 Cys 殘基。

較佳之連接子多肽 L 係選自包括下述序列之連接子多肽組群：[GlyGlyGlySerGlyGly](SEQ ID NO: 137)、
[GlyGlyGlySerGlyGlyGly](SEQ ID NO: 138)、
[GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly](SEQ ID NO: 139)、
[GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySer](SEQ ID NO: 140)、
[GlyGlyGlySerGlyCysGlyGlySerGly](SEQ ID NO: 141)、
[GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGly](SEQ ID NO: 143)、
[LysArgSerLeuSerArgLysLysArg](SEQ ID NO: 144)、

[GlyGlyGlySerGlyLysGlyGlySerGly](SEQ ID NO: 142)、
 [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly](SEQ ID NO:
 145)、與
 [GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGly](SEQ ID NO: 146)。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，
 其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，及

L 係 7、8、9 或 10 個胺基酸長之連接子多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，
 其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其相較於 SEQ ID NO: 117 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換之功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其相較於 SEQ ID NO: 119 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換且包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X 之功能性變異體，及

L 係 7、8、9 或 10 個胺基酸長之連接子多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，
 其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，及
L 係 7、8、9 或 10 個胺基酸長之連接子多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，
其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，及

L 係 9 個胺基酸長之連接子多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，
其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其相較於 SEQ ID NO: 117 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換之功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其相較於 SEQ ID NO: 119 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換且包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X 之功能性變異體，及

L 係 9 個胺基酸長之連接子多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，
其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，及

L 係 9 個胺基酸長之連接子多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，及

L 係 7、8、9 或 10 個胺基酸長之連接子多肽，其包含比例至少為 3 比 1 之甘胺酸與絲胺酸殘基。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其相較於 SEQ ID NO: 117 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換之功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其相較於 SEQ ID NO: 119 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換且包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X 之功能性變異體，及

L 係 7、8、9 或 10 個胺基酸長之連接子多肽，其包含比例至少為 3 比 1 之甘胺酸與絲胺酸殘基。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，及

L 係 7、8、9 或 10 個胺基酸長之連接子多肽，其包含比

例至少為 3 比 1 之甘胺酸與絲胺酸殘基。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，及

L 係 9 個胺基酸長之連接子多肽，其包含比例至少為 3 比 1 之甘胺酸與絲胺酸殘基。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其相較於 SEQ ID NO: 117 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換之功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其相較於 SEQ ID NO: 119 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換且包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X 之功能性變異體，及

L 係 9 個胺基酸長之連接子多肽，其包含比例至少為 3 比 1 之甘胺酸與絲胺酸殘基。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，及

L 係 9 個胺基酸長之連接子多肽，其包含比例至少為 3 比 1 之甘胺酸與絲胺酸殘基。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，及

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其相較於 SEQ ID NO: 117 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換之功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其相較於 SEQ ID NO: 119 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換且包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X 之功能性變異體，及

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，及
L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽。

本發明之更佳具體實例為包含 scR4 (SEQ ID NO: 4) 序列之融合多肽。

本發明之更佳具體實例為包含無標記 scR4 (SEQ ID NO: 45)序列之融合多肽。

本發明之較佳具體實例為包含 A-L-B 之融合多肽，其中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其相較於 SEQ ID NO: 117 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換之功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其相較於 SEQ ID NO: 119 具有 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個胺基酸替換且包含保守特徵結構 Arg-X-X-X-Arg-X-X-Ile/Val-X 之功能性變異體，及

L 係選自包括具有 SEQ ID NO: 137 – 146 胺基酸序列之連接子之連接子胜肽組群之連接子多肽。

連接子長度可介於 6 與 14 個胺基酸間，而較長連接子胜肽本身可傳介附加功能為可理解。

於進一步具體實例中，上述融合多肽 A-L-B 具有鬆弛素活性。於進一步較佳具體實例中，鬆弛素活性為鬆弛素受體 LGR7 之活化。測定鬆弛素活性之方法為此項技藝中已知，或於本文中提供。於又進一步較佳具體實

例中，鬆弛素受體 LGR7 之活化係利用本文實驗方法中揭示之方法測定。於又進一步較佳具體實例中，鬆弛素受體 LGR7 活化之測定係測定 EC_{50} 值。於又更佳具體實例中，上述鬆弛素活性相較於誘發半最大活性之相應野生型鬆弛素之有效濃度，降低小於 10^5 倍、 10^4 倍、 10^3 倍、100 倍、75 倍、50 倍、25 倍或 10 倍。例如，就根據人類鬆弛素 2 之融合多肽而言，A-L-B 之相應野生型鬆弛素係人類鬆弛素 2 蛋白。

單鏈鬆弛素變異體生物半衰期之增進

本發明融合多肽半衰期之增進可利用添加半衰期延長基團達成。

於本發明具體實例中，上述融合多肽 A-L-B 進一步包含至少一個半衰期延長基團。於一具體實例中，該半衰期延長基團為蛋白性質或非蛋白性質聚合物。

經由非蛋白性質聚合物半衰期延長基團之半衰期延長：

增進融合多肽 A-L-B 之生物半衰期，可利用共價偶合於包含供融合於 A-L-B N 及/或 C 端之非蛋白性質聚合物半衰期延長基團連接部位之延伸多肽之非蛋白性質聚合物半衰期延長基團而達成；連接此類基團之方法為此項技藝中已知。

非蛋白性質聚合物半衰期延長基團可共價偶合於融合多肽 A-L-B 之連接部位。連接部位可為於 A、L 或 B 之內，或添加包含重組融合於上述融合多肽 A-L-B 之 N 端及/或 C 端之此類連接部位之多肽。較佳者為經由連接

子多肽 L、或融合包含連接部位之延伸子之融合多肽 A-L-B 之 N 及/或 C 端之偶合。連接部位可為連接胺基酸，例如 Cys 或 Lys，或碳水化合物之醣部分。

欲偶合於變異體多肽之非蛋白性質聚合物分子可為任何適當之聚合物分子，例如天然或合成之同質聚合物或異質聚合物，一般為分子量介於約 300-100,000 Da 之範圍內，例如約 500-20,000 Da；更佳為介於約 500-15,000 Da 之範圍內；又更佳為介於約 2-12 kDa 之範圍內，例如介於約 3-10 kDa 之範圍內。本文中有關特定分子量使用"約"一詞時，係表示近似之平均分子量，及反映出於給定聚合物之製備中，通常具特定分子量分佈之事實。同質聚合物之實例包括多醇(亦即多 OH)、多胺(亦即多 NH₂)及多羧酸(亦即多-COOH)。異質聚合物為包含不同偶合組群(例如羥基組群與胺組群)之聚合物。

適當聚合物分子之實例包括選自由聚伸烷氧(PAO)包括聚伸烷二醇(PAG)例如聚乙二醇(PEG)與聚丙二醇(PPG)、分支鏈 PEG、羥烷基澱粉(HAS)例如羥乙基澱粉(HES)、聚唾液酸(PSA)、聚乙烯醇(PVA)、聚羧酸酯、聚(乙烯基吡咯啉酮)、乙烯-順丁烯二酸酐共聚物、苯乙烯-順丁烯二酸酐共聚物、葡聚醣包括羧甲基-葡聚醣、或適用於減少免疫原性及/或增加功能性體內半衰期及/或血清半衰期之任何其他生物聚合物構成之組群之聚合物分子。聚合物分子之另一實例為人類白蛋白或另一含量高之血漿蛋白。通常，聚伸烷二醇衍生之聚合物為可

生物相容、無毒、無抗原性、無免疫原性、具多種水溶性、及容易自生物體排出。

PEG 為較佳之聚合物分子，因其相較於例如多醣類(如葡聚醣)，僅具少數能交聯之反應基團。特別是，單官能性 PEG，例如甲氧聚乙二醇(mPEG)，由於其偶合化學相當簡單(只有一個反應基團可用於與多肽上之連接基團共軛結合)而引起關注。結果，由於交聯之風險被排除，所得本發明之共軛結合融合多肽更具同質性，因此該聚合物分子與變異體多肽之反應更容易控制。

為了使聚合物分子與本發明融合多肽共價連接，聚合物分子之羥基端基團必須呈活化形式，亦即具反應性之官能基[其實例包括一級胺基、醯肼(HZ)、硫醇、琥珀酸根(SUC)、琥珀醯亞胺基琥珀酸根(SS)、琥珀醯亞胺基琥珀二醯胺(SSA)、琥珀醯亞胺基丙酸根(SPA)、琥珀醯亞胺基丁酸根(SBA)、琥珀醯亞胺基羧甲基(SCM)、苯并三唑碳酸根(BTC)、N-羥琥珀醯亞胺(NHS)、醛、硝苯基碳酸根(NPC)、與三氟乙磺酸根(TRES)]提供。適當活化之聚合物分子係市售可得，例如得自 Shearwater Polymers, Inc., Huntsville, AL, USA，或得自 PolyMASC Pharmaceuticals plc, UK。

替代地，聚合物分子可利用此項技藝中已知(例如揭示於 WO 90/13540 中)之習用方法進行活化。用於本發明之經活化之直鏈或分支鏈聚合物分子之具體實例見述於 Shearwater Polymers, Inc. 1997 及 2000 目錄

(Functionalized Biocompatible Polymers for Research and Pharmaceuticals, Polyethylene Glycol and Derivatives, 併入本文以資參考)。活化 PEG 聚合物之具體實例包括下述直鏈 PEG: NHS-PEG (例如 SPA-PEG、SSPA-PEG、SBA-PEG、SS-PEG、SSA-PEG、SC-PEG、SG-PEG、與 SCM-PEG)、NOR-PEG、BTC-PEG、EPOXPEG、NCO-PEG、NPC-PEG、CDI-PEG、ALD-PEG、TRES-PEG、VS-PEG、IODO-PEG、與 MAL-PEG、及分支鏈 PEG 例如 PEG2-NHS 及 US 5,932,462 與 US 5,643,575 (二者均併入本文以資參考)中揭示者。再者, 下述公告案揭示有用之聚合物分子及/或聚乙二醇化學: US 5,824,778、US 5,476,653、WO 97/32607、EP 229,108、EP 402,378、US 4,902,502、US 5,281,698、US 5,122,614、US 5,219,564、WO 92/16555、WO 94/04193、WO 94/14758、WO 94/17039、WO 94/18247、WO 94/28024、WO 95/00162、WO 95/11924、WO95/13090、WO 95/33490、WO 96/00080、WO 97/18832、WO 98/41562、WO 98/48837、WO 99/32134、WO 99/32139、WO 99/32140、WO 96/40791、WO 98/32466、WO 95/06058、EP 439 508、WO 97/03106、WO 96/21469、WO 95/13312、EP 921 131、US 5,736,625、WO 98/05363、EP 809 996、US 5,629,384、WO 96/41813、WO 96/07670、US 5,473,034、US 5,516,673、EP 605 963、US 5,382,657、EP 510 356、EP 400 472、EP 183 503 與 EP 154 316。

供偶合於半胱胺酸殘基之特佳活化 PEG 聚合物之具體實例包括下述直鏈 PEG：乙烯砜-PEG (VS-PEG)，較佳為乙烯砜-mPEG (VS-mPEG)；順丁烯二醯亞胺-PEG (MAL-PEG)，較佳為順丁烯二醯亞胺-mPEG (MAL-mPEG)與鄰吡啶基-二硫化物-PEG (OPSS-PEG)，較佳為鄰吡啶基-二硫化物-mPEG (OPSS-mPEG)。一般而言，此類 PEG 或 mPEG 聚合物具有約 5 kDa、約 10 kD、約 12 kDa 或約 20 kDa 之大小。

本發明融合多肽與活化聚合物分子之共軛結合係藉由使用例如見述於下述參考文獻(其中亦敘述用於活化聚合物分子之適當方法)之任何習知方法進行：Harris and Zalipsky, eds., Poly(ethylene glycol) Chemistry and Biological Applications, AZC Washington；R.F. Taylor, (1991), "Protein immobilisation. Fundamental and applications", Marcel Dekker, N.Y.; S.S. Wong, (1992), "Chemistry of Protein Conjugation and Crosslinking", CRC Press, Boca Raton；G.T. Hermanson et al., (1993), "Immobilized Affinity Ligand Techniques", Academic Press, N.Y.)。

熟習人士知道，欲使用之活化方法及/或共軛結合化學視融合多肽之連接基團(其實例見上文)，以及聚合物之官能基(例如為胺、羥基、羧基、醛、巰基、琥珀醯亞胺基、順丁烯二醯亞胺、乙烯砜或鹵基乙酸根)而定。聚乙二醇化可直接針對融合多肽上所有可用的連接基團

(亦即暴露於多肽表面之此類連接基團)或可針對一或多個特定連接基團，例如見述於 US 5,985,265 中之 N 端胺基或針對半胱胺酸殘基之共軛結合。再者，共軛結合可以一個步驟或逐步方式(例如 WO 99/55377 中所述)達成。

針對半胱胺酸殘基之聚乙二醇化(見上文)，於聚乙二醇化之前，通常係以還原劑例如二硫蘇糖醇(DTT)處理融合多肽；接著利用任何習知方法(例如脫鹽法)移除還原劑。PEG 與半胱胺酸殘基之共軛結合通常於 pH 6-9 之適當緩衝液中，溫度 4°C 至 25°C 不等，進行多達 16 小時。

一般將理解，聚乙二醇化係經設計俾使產生有關連接之 PEG 分子數、此等分子之大小與形狀(例如彼等是否為直鏈或分支鏈)、及於融合多肽中之連接部位之最適分子。欲使用聚合物之分子量，舉例而言，可根據欲達成之期望功效進行選擇。

關於僅共軛結合於蛋白質上之單一連接基團(例如 N 端胺基)，可為直鏈或分支鏈之聚合物分子以具有高分子量(較佳為約 10-25 kDa，例如約 15-25 kDa，例如約 20 kDa)為有利。

正常情況下，聚合物共軛結合於針對使許多可用的聚合物連接基團與聚合物分子反應之條件下進行；此係利用相對於多肽，適當莫耳過量之聚合物達成。通常，活化之聚合物分子對多肽之莫耳比為高達約 1000-1，例

如高達約 200-1，或高達約 100-1；然而，於若干情形下，此比率可稍微低些，例如高達約 50-1、10-1、5-1、2-1 或 1-1 以獲得最適反應。

根據本發明亦考量經由連接子使聚合物分子連接於多肽。適當連接子為熟習人士所熟知；較佳實例為三聚氯化氰[Abuchowski et al., (1977), J. Biol. Chem., 252, 3578-3581; US 4,179,337; Shafer et al., (1986), J. Polym. Sci. Polym. Chem. Ed., 24, 375-378)]。

共軛結合後，剩餘之活化聚合物分子根據此項技藝中之已知方法予以封阻，例如，添加一級胺於反應混合物中，所得失活聚合物分子再以適當方法移除。

一般將理解，視情況而定，例如融合多肽之胺基酸序列、所用活化 PEG 化合物性質及特定聚乙二醇化條件(包括 PEG 對多肽之莫耳比)，可獲得不同程度之聚乙二醇化；較高之 PEG 對融合多肽比，通常可獲得較高度之聚乙二醇化。然而，任何既定聚乙二醇化程序所產生之聚乙二醇化融合多肽通常包含隨機分佈之具稍微不同程度聚乙二醇化之共軛結合融合多肽。

就增進鬆弛素或本發明融合多肽之生物半衰期而言，例如聚乙二醇化、或羥乙基澱粉化等化學修飾法均適用。

HAS 與 HES 非蛋白性質聚合物，以及產生 HAS 或 HES 共軛物之方法揭示於例如 WO02/080979、WO03/070772、WO057092391 及 WO057092390 中。

聚唾液酸化為另一技術，其係以天然聚合物聚唾液酸(PSA)延長半衰期及增進治療性胜肽與蛋白質之穩定性。PSA 為唾液酸(一種糖)之聚合物；用於蛋白質與治療性胜肽藥物遞送時，聚唾液酸針對共軛結合提供保護性小環境；此增加治療性蛋白質於循環中之活性壽命，防止其被免疫系統識別。PSA 聚合物天然存在於人體中；被演化超過數百萬年之特定細菌吸收，覆蓋於其細胞壁表面；隨後彼等天然聚唾液酸化之細菌憑藉分子擬態(molecular mimicry)而能阻擾人體之防禦系統。PSA，大自然之終極匿蹤技術(stealth technology)，可自此類細菌容易地大量生產及具預先確定之物理特性。細菌 PSA 由於與人體中之 PSA 化學上相同，因此即使連接於蛋白質時，亦完全無免疫原性。

經由蛋白性質半衰期延長基團之半衰期延長：

增進融合多肽 A-L-B 半衰期之進一步可能性，常用之方法為與蛋白性質半衰期延長基團例如抗體之免疫球蛋白 Fc 片段、轉鐵蛋白、轉鐵蛋白受體或至少其轉鐵蛋白結合部分、血清白蛋白、或其變異體或體內結合於其他傳介較長半衰期分子之結合模組例如血清白蛋白結合蛋白之融合。

上述 sc 鬆弛素多肽可直接或經由胜肽連接子融合於免疫球蛋白之 Fc 部分。“免疫球蛋白”係含有以二硫鍵連接在一起的多肽鏈之分子，通常具有兩條輕鏈及兩條重鏈。於各鏈中，一功能區(V)具有取決於分子抗體特異

性之可變胺基酸序列；其他功能區(C)具有相同類別分子共有之相當恒定之序列。

本文所用免疫球蛋白之“Fc”部分具有通常於免疫學領域中之術語給定之意義。具體而言，此術語係指自抗體移除兩個抗原結合區(Fab 片段)獲得之抗體片段。移除 Fab 片段之一方法為以木瓜蛋白酶水解免疫球蛋白。因此，Fc 部分係由得自經由非共價相互作用及二硫鍵結合在一起的兩條重鏈恒定區之大小約相同之片段形成。Fc 部分可包括鉸鏈區並經由 CH2 與 CH3 功能區延伸至抗體 C 端。人類及小鼠免疫球蛋白之代表性鉸鏈區可於 Antibody Engineering, A Practical Guide, Borrebaeck, C.A.K., ed., W.H. Freeman and Co., 1992 中找到。

具有不同效應子及藥物動力學性質之人類免疫球蛋白 Fc 區有五種：IgG、IgA、IgM、IgD、與 IgE。IgG 為血清中最大量之免疫球蛋白；於任何免疫球蛋白之血清中，亦具有最長半衰期(23 天)。不同於其他免疫球蛋白，IgG 於結合於 Fc 受體後，有效地再循環。IgG 亞群有 G1、G2、G3、與 G4 四種，各者具有不同效應子功能。彼等效應子功能通常經由與 Fc 受體(FcγR)相互作用或利用結合 C1q 及固定補體而傳介。結合於 FcγR 會導致抗體依賴性細胞傳介之細胞溶解，而結合於補體因子會導致補體傳介之細胞分解。於設計其中 Fc 部分之被利用僅針對其半衰期延長能力之異源 Fc 融合蛋白時，重要的是使任何效應子功能減至最小。所有 IgG 亞群均能結合

於 Fc 受體(CD16、CD32、CD64)，以 G1 與 G3 比 G2 與 G4 更具效力。IgG 之 Fc 受體結合區係由位於 CH2 功能區之鉸鏈區以及羧端區之殘基形成。

視所需體內效應而定，本發明之異源融合蛋白可含上述任何同型或可含其中補體及/或 Fc 受體結合功能已改變之突變 Fc 區。因此，本發明異源融合蛋白可含有整個免疫球蛋白 Fc 部分、免疫球蛋白 Fc 部分之片段、或融合於 sc 鬆弛素化合物之其類似物。

無論融合蛋白最終結構如何，該 Fc 或類 Fc 區必須對延長融合於 C 端或 N 端之 sc 鬆弛素化合物之體內血漿半衰期有用。較佳為，該融合之 sc 鬆弛素化合物保留若干生物活性。生物活性可利用此項技藝中已知之體外及體內方法測定。

較佳為，用於本發明異源融合蛋白之 Fc 區係衍生自 IgG1 或 IgG2 Fc 區。

一般而言，用於本發明異源融合蛋白之 Fc 區可衍生自任何物種，包括惟不限於人類、大鼠、小鼠與豬。較佳為，用於本發明之 Fc 區係衍生自人類或大鼠；然而，最佳者為人類 Fc 區與片段及其變異體，以降低該融合蛋白於人體中具免疫原性之風險。"原態序列 Fc 區"包含與自然界中發現之 Fc 區胺基酸序列完全相同之胺基酸序列。"變異 Fc 區"包含由於至少一個胺基酸改變而與原態序列 Fc 區不同之胺基酸序列。較佳為，變異 Fc 區相較於原態序列 Fc 區或母多肽 Fc 區，具有至少一個胺基酸

替換，例如，於原態序列 Fc 區或母多肽 Fc 區中之約一至約十個胺基酸替換，較佳為約一至約五個胺基酸替換。本文中之變異 Fc 區與原態序列 Fc 區及/或與母多肽 Fc 區較佳為具有至少約 80% 序列同一性，最佳為至少約 90% 序列同一性，更佳為至少約 95% 序列同一性。

上述 sc 鬆弛素化合物可直接或經由胜肽延伸子融合於白蛋白或其類似物、片段、或衍生物。通常，組成部分本發明融合蛋白之白蛋白蛋白質可衍生自從任何物種轉殖之白蛋白。然而，以人類白蛋白及其片段與類似物較佳，以降低該融合蛋白於人體中具免疫原性之風險。人類血清白蛋白(HSA)由具 585 個胺基酸之單一非糖基化多肽鏈組成，分子量為 66,500。HAS 之胺基酸序列(SEQ ID NO:123)已於例如 Meloun, et al. (1975); Behrens, et al. (1975); Lawn, et al. (1981)與 Minghetti, et al. (1986)中敘述。白蛋白之各種多型變異體以及類似物與片段已見敘述[參見 Weitkamp, et al. (1973)]。舉例而言，EP0322094 及 EP0399666 揭示各種人類血清白蛋白片段。一般理解，本發明之異源融合蛋白包含連接於包括片段、類似物、與衍生物之任何白蛋白蛋白質之 sc 鬆弛素化合物，其中此等融合蛋白具生物活性，比單獨 sc 鬆弛素化合物具有更長之血漿半衰期。因此，該融合蛋白之白蛋白部分不必然需要具有與原態人類白蛋白相等之血漿半衰期。彼等片段、類似物、與衍生物係已知或可產生具有較長半衰期或具有介於原態人類白蛋白與感

興趣 sc 鬆弛素化合物間之半衰期者。彼等技術為此項技藝中熟知，參見，例如，WO 93/15199、WO 93/15200、WO 01/77137 與 EP0413622。

於本發明具體實例中，蛋白性質半衰期延長基團具免疫原性，係人類或擬人化。於較佳具體實例中，蛋白性質半衰期延長基團為人類，例如人類轉鐵蛋白(SEQ ID NO: 122)、人類血清白蛋白(SEQ ID NO: 123)、或人類 IgG1 Fc (SEQ ID NO: 120)。

附加地，亦可使用增進生物半衰期之其他蛋白質、蛋白質功能區或胜肽作為融合夥伴。

經由融合於人類血清白蛋白之半衰期延長揭示於例如 WO93/15199；為增進蛋白質藥物動力學一般策略之白蛋白結合見述於例如 Dennis et al., The Journal of Biological Chemistry, Vol. 277, No 38, Issue of September 20, pp. 35035-35043；經由融合於人類血清白蛋白結合蛋白質之半衰期延長揭示於例如 US20100104588；經由融合於人類血清白蛋白或 IgG-Fc 結合蛋白質之半衰期延長揭示於例如 WO01/45746；經由融合於人類血清白蛋白結合胜肽之半衰期延長之進一步實例揭示於 WO2010/054699。

經由融合於 Fc 功能區之半衰期延長揭示於例如 WO2001/058957。

生物活性決定感興趣蛋白質至其融合夥伴之較佳方位；融合夥伴之 C 端以及 N 端方位均包含在內。此外，

為了增進生物半衰期或其他功能，可利用磷酸化、硫酸化、丙烯醯化、醣基化、去醣基化、甲基化、法尼基化(farnesylation)，乙醯化、醯胺化等修飾融合夥伴。

蛋白性質半衰期延長基團係重組融合於上述融合多肽 A-L-B 之 N 端及/或 C 端；該融合可有或無附加之延伸子多肽。蛋白性質半衰期延長基團之實例為轉鐵蛋白、轉鐵蛋白受體或至少其轉鐵蛋白結合部分、血清白蛋白、血清白蛋白結合蛋白、免疫球蛋白、及免疫球蛋白 Fc 功能區。較佳者為人類蛋白性質半衰期延長基團，例如人類轉鐵蛋白、人類轉鐵蛋白受體或至少其轉鐵蛋白結合部分、人類血清白蛋白、人類免疫球蛋白或人類 Fc 功能區。融合夥伴直接或利用延伸胺基酸(亦稱為延伸子)連接。融合接合處係界定為融合蛋白中，第一個蛋白質或胜肽最後一個 C 端胺基酸與第二個蛋白質或胜肽第一個 N 端胺基酸間之位置。因此，融合接合處或延伸子包括 N 端融合夥伴最後一個胺基酸與 C 端融合夥伴第一個胺基酸間之任何胺基酸。

延伸子單元：

此類延伸子係此項技藝中已知及為 1 至約 100 個胺基酸長、為 1 至約 50 個胺基酸長、為 1 至約 25 個胺基酸長、為 1 至約 15 個胺基酸長、為 1 至 10 個胺基酸長、為 4 至 25 個胺基酸長、為 4 至 20 個胺基酸長、為 4 至 15 個胺基酸長、或為 4 至 10 個胺基酸長。

延伸子序列之胺基酸組成可改變，惟以展現低免疫

原性評分之延伸子較佳。於本發明具體實例中，連接融合多肽 A-L-B 與蛋白性質半衰期延長基團之延伸子多肽可由任何胺基酸組成；例如 scR-Fc1 中所用延伸子多肽係由帶電荷且龐大之胺基酸(例如 Glu、Arg 或 Asp)組成，而 scR-Fc2 中之延伸子多肽則由未帶電荷之胺基酸(例如 Gly 與 Ser)組成。

於較佳具體實例中，延伸子多肽包含至少一個 Gly、Ser、Ile、Glu、Arg、Met、及/或 Asp 殘基。於更佳具體實例中，延伸子多肽包含 Gly 與 Ser 殘基。於進一步較佳具體實例中，延伸子胜肽係富含甘胺酸之連接子，例如包含如揭示於美國專利案 No. 7,271,149 之 [GGGGS]_n 序列之胜肽。於其他具體實例中，係使用如美國專利案 No. 5,525,491 所述之富含絲胺酸之延伸子多肽。進一步較佳具體實例為包含 Gly 與 Ser 殘基及具有至少 3 對 1 之 Gly 對 Ser 比之延伸子多肽。進一步較佳者為於 C-及/或 N-末端具有脯胺酸殘基之延伸子多肽。

較佳之延伸子胜肽為 [GlyGlySerPro] (SEQ ID NO: 148)、

[GlyGlySerGlyGlySerPro] (SEQ ID NO: 149)、與

[GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro] (SEQ ID NO: 150)。

具增進半衰期之此類融合多肽可以包含 (R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p 序列之融合多肽表示。

本發明之進一步具體實例為一種融合多肽，其包含

$(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ ，式中

A、L 與 B 具有如上文揭示之界定，

R1 與 R2 係蛋白性質半衰期延長基團，

S1 與 S2 係如上文界定之延伸子胜肽，

及式中 m、n、o、與 p 獨立地具有整數 0 或 1，惟 m、n、o、與 p 至少一者為 1。舉例而言， $(S1)_n=0$ 意指無連接子 S1 存在融合多肽中。

於進一步具體實例中，若 m 為整數 1，則 n 為整數 1。於進一步具體實例中，若 p 為整數 1，則 o 為整數 1。

於較佳具體實例中，n 與 m 為 0 及 o 與 p 為 1。於進一步較佳具體實例中，n 與 m 為 1 及 o 與 p 為 0。

本發明之進一步具體實例為一種融合多肽，其包含 $(R1)_{m=1}-(S1)_{n=0}-A-L-B-(S2)_{o=0}-(R2)_{p=0}$ 。

本發明之進一步具體實例為一種融合多肽，其包含 $(R1)_{m=0}-(S1)_{n=0}-A-L-B-(S2)_{o=0}-(R2)_{p=1}$ 。

於較佳具體實例中，蛋白性質半衰期延長基團係選自包括血清白蛋白、轉鐵蛋白、Fc 功能區、IgG1 Fc 功能區、與血清白蛋白結合蛋白之組群。

於進一步具體實例中，上述融合多肽進一步包含至少一個相較於相應野生型鬆弛素具有延長之半衰期之半衰期延長基團，其中該半衰期延長至少 5、10、20、50、100 或 500 倍。較佳為，半衰期係呈血清半衰期測定，意指於血清或全血中檢測融合蛋白，例如使用市售可得之定量 ELISA 分析(例如 R&D Systems' Human Relaxin-2

Quantikine ELISA 套組，目錄編號 DRL200)。半衰期較佳為人類血液半衰期。較佳為，半衰期係呈功能性體內半衰期測定，意指測定血清或血液試樣中之融合多肽活性。測定本發明融合多肽 A-L-B 活性之分析為此項技藝中已知並於本文中敘述。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含 $(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ ，式中
 A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽 (SEQ ID NO: 117) 或其功能性變異體，
 B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽 (SEQ ID NO: 119) 或其功能性變異體，
 L 係 9 個胺基酸長之連接子多肽，
 R1 與 R2 係半衰期延長基團，較佳為蛋白性質半衰期延長基團，
 S1 與 S2 係如上文界定之延伸子胜肽，
 及式中 m、n、o、與 p 獨立地具有整數 0 或 1，惟 m、n、o、與 p 至少一者為 1，較佳為至少 m 或 p 為 1，更佳為 m 與 n 為 0 及 o 與 p 為 1，及最佳為 m 與 n 為 1 及 o 與 p 為 0。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含 $(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ ，式中
 A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽 (SEQ ID NO: 117)，
 B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽 (SEQ ID NO: 119)，
 L 係 9 個胺基酸長之連接子多肽，

R1 與 R2 係半衰期延長基團，較佳為蛋白性質半衰期延長基團，

S1 與 S2 係如上文界定之延伸子胜肽，

及式中 m 、 n 、 o 、與 p 獨立地具有整數 0 或 1，惟 m 、 n 、 o 、與 p 至少一者為 1，較佳為至少 m 或 p 為 1，更佳為 m 與 n 為 0 及 o 與 p 為 1，及最佳為 m 與 n 為 1 及 o 與 p 為 0。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含 $(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ ，式中
A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽 (SEQ ID NO: 117) 或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽 (SEQ ID NO: 119) 或其功能性變異體，

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139) 序列之連接子多肽，

R1 與 R2 係半衰期延長基團，較佳為蛋白性質半衰期延長基團，

S1 與 S2 係如上文界定之延伸子胜肽，

及式中 m 、 n 、 o 、與 p 獨立地具有整數 0 或 1，惟 m 、 n 、 o 、與 p 至少一者為 1，較佳為至少 m 或 p 為 1，更佳為 m 與 n 為 0 及 o 與 p 為 1，及最佳為 m 與 n 為 1 及 o 與 p 為 0。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含 $(R1)_m-(S1)_n-A-L-B-(S2)_o-(R2)_p$ ，式中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117) ,

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119) ,

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽 ,

R1 與 R2 係半衰期延長基團 , 較佳為蛋白性質半衰期延長基團 ,

S1 與 S2 係如上文界定之延伸子胜肽 ,

及式中 m、n、o、與 p 獨立地具有整數 0 或 1 , 惟 m、n、o、與 p 至少一者為 1 , 較佳為至少 m 或 p 為 1 , 更佳為 m 與 n 為 0 及 o 與 p 為 1 , 及最佳為 m 與 n 為 1 及 o 與 p 為 0 。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽 , 其包含 (R1)-(S1)-A-L-B , 式中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體 ,

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體 ,

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽 ,

R1 係半衰期延長基團 , 較佳為蛋白性質半衰期延長基團 , 及

S1 係如上文界定之延伸子胜肽 。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽 , 其包含 (R1)-(S1)-A-L-B , 式中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，
 B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，
 L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽，
 R1 係半衰期延長基團，較佳為蛋白性質半衰期延長基團，及
 S1 係如上文界定之延伸子胜肽。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含 (R1)-(S1)-A-L-B，式中
 A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，
 B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，
 L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽，
 R1 係蛋白性質半衰期延長基團，
 S1 係 4 至 10 個胺基酸長之延伸子胜肽，較佳為選自包括 GlyGlySerPro (SEQ ID NO: 148)、
 GlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 149)、與
 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)之組群。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含 (R1)-(S1)-A-L-B，式中
 A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119) ,
 L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽 ,
 R1 係蛋白性質半衰期延長基團 ,
 S1 係 4 至 10 個胺基酸長之延伸子胜肽 , 較佳為選自包括 GlyGlySerPro (SEQ ID NO: 148) 、
 GlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 149) 、 與
 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)之組群。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽 , 其包含 (R1)-(S1)-A-L-B , 式中
 A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體 ,
 B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體 ,
 L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽 ,
 R1 係蛋白性質半衰期延長基團 ,
 S1 係 10 個胺基酸長之延伸子胜肽。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽 , 其包含 (R1)-(S1)-A-L-B , 式中
 A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117) ,
 B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119) ,
 L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO:

139)序列之連接子多肽，

R1 係蛋白性質半衰期延長基團，

S1 係 10 個胺基酸長之延伸子胜肽。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含
(R1)-(S1)-A-L-B，式中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽，

R1 係蛋白性質半衰期延長基團，

S1 係由 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)組成之延伸子胜肽。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含
(R1)-(S1)-A-L-B，式中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽，

R1 係蛋白性質半衰期延長基團，

S1 係由 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)組成之延伸子胜肽。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含

(R1)-(S1)-A-L-B，式中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)或其功能性變異體，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)或其功能性變異體，

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽，

R1 係抗體之 Fc 功能區，較佳為人類 IgG1 或 IgG2 Fc 功能區，

S1 係由 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)組成之延伸子胜肽。

本發明之較佳具體實例為一種融合多肽，其包含 (R1)-(S1)-A-L-B，式中

A 係人類鬆弛素 2 A 鏈多肽(SEQ ID NO: 117)，

B 係人類鬆弛素 2 B 鏈多肽(SEQ ID NO: 119)，

L 係具有 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly (SEQ ID NO: 139)序列之連接子多肽，

R1 係抗體之 Fc 功能區，較佳為人類 IgG1 或 IgG2 Fc 功能區，

S1 係由 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro (SEQ ID NO: 150)組成之延伸子胜肽。

本發明之進一步較佳具體實例為一種融合多肽，其包含如表 3 中提出之多肽。

本發明之進一步較佳具體實例為如表 3 中提出之融

合多肽。

表 3：

建構體	SEQ ID NO
scR3	SEQ ID NO:3
scR4	SEQ ID NO:4
scR5	SEQ ID NO:5
scR7	SEQ ID NO:7
scR8	SEQ ID NO:8
scR9	SEQ ID NO:9
scR10	SEQ ID NO:10
scR11	SEQ ID NO:11
scR12	SEQ ID NO:12
scR13	SEQ ID NO:13
scR14	SEQ ID NO:14
scR15	SEQ ID NO:15
scR-Fc 1	SEQ ID NO:16
scR-Fc 2	SEQ ID NO:17
scR-Fc 3	SEQ ID NO:18
scR-Fc 4	SEQ ID NO:19
scR-Fc 5	SEQ ID NO:20
scR-Fc 6	SEQ ID NO:21
scR-Fc 7	SEQ ID NO:22
scR-Fc 8	SEQ ID NO:23
scR-Fc 9	SEQ ID NO:24
scR-Fc 10	SEQ ID NO:25
scR-Fc 11	SEQ ID NO:26
scR-Fc 12	SEQ ID NO:27
scR-Fc 13	SEQ ID NO:28
scR-Fc 14	SEQ ID NO:29
scR-Fc 15	SEQ ID NO:30
scR-Fc 16	SEQ ID NO:31
scR-Fc 17	SEQ ID NO:32
scR-Fc 18	SEQ ID NO:33
scR-Var1	SEQ ID NO:34
scR-Var2	SEQ ID NO:35
scR-Var3	SEQ ID NO:36
scR-Var4	SEQ ID NO:37
scR-Var5	SEQ ID NO:38
scR-Var6	SEQ ID NO:39

建構體	SEQ ID NO
scR-Var7	SEQ ID NO:40
scR-Var8	SEQ ID NO:41
無標記 scR3	SEQ ID NO:44
無標記 scR4	SEQ ID NO:45
無標記 scR5	SEQ ID NO:46
無標記 scR6	SEQ ID NO:47
無標記 scR7	SEQ ID NO:48
無標記 scR8	SEQ ID NO:49
無標記 scR9	SEQ ID NO:50
無標記 scR10	SEQ ID NO:51
無標記 scR-Fc 1	SEQ ID NO:52
無標記 scR-Fc 8	SEQ ID NO:53
無標記 scR-Fc 9	SEQ ID NO:54
無標記 scR-Fc 10	SEQ ID NO:55
無標記 scR-Fc 11	SEQ ID NO:56
無標記 scR-Fc 12	SEQ ID NO:57
無標記 scR-Fc 13	SEQ ID NO:58
scR17	SEQ ID NO:153
scR19	SEQ ID NO:155

於進一步具體實例中，上述融合多肽 A-L-B 進一步包含具有鬆弛素活性之半衰期延長基團。於進一步較佳具體實例中，該鬆弛素活性為鬆弛素受體 LGR7 之活化。測定鬆弛素活性之方法為此項技藝中已知或於本文中提供。於又進一步較佳具體實例中，鬆弛素受體 LGR7 之活化係利用本文實驗方法中揭示之方法測定。於又進一步較佳具體實例中，鬆弛素受體 LGR7 活化之測定係測定 EC_{50} 值。於又更佳具體實例中，相較於相應野生型鬆弛素活性，上述鬆弛素活性降低小於 10^5 倍、 10^4 倍、 10^3 倍、100 倍、75 倍、50 倍、25 倍或 10 倍。例如，就根據人類鬆弛素 2 之融合多肽 A-L-B 而言，相應野生

型鬆弛素係人類鬆弛素 2 蛋白。

轉殖、載體系統、表現、宿主、及純化

本發明亦提供包含編碼本發明融合多肽之單離核酸分子之載體；此載體系統有效地連接至能引導其於宿主細胞中表現之表現序列。

適當宿主細胞可選自包括細菌細胞(例如大腸桿菌)、酵母細胞[例如啤酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)]、真菌細胞、植物細胞、昆蟲細胞與動物細胞之組群。動物細胞包括，惟不限於，HEK293 細胞、CHO 細胞、COS 細胞、BHK 細胞、HeLa 細胞及各種初代哺乳動物細胞；亦可應用哺乳動物細胞之衍生物，例如 HEK293T 細胞。

本發明之 DNA 分子

本發明亦有關編碼本發明融合蛋白質之 DNA 分子；彼等序列包括，惟不限於，於表 4 中提出之 DNA 分子。

表 4：

建構體	SEQ ID NO
scR1	SEQ ID NO:59
scR2	SEQ ID NO:60
scR3	SEQ ID NO:61
scR4	SEQ ID NO:62
scR5	SEQ ID NO:63
scR6	SEQ ID NO:64
scR7	SEQ ID NO:65
scR8	SEQ ID NO:66
scR9	SEQ ID NO:67
scR10	SEQ ID NO:68
scR11	SEQ ID NO:69

建構體	SEQ ID NO
scR12	SEQ ID NO:70
scR13	SEQ ID NO:71
scR14	SEQ ID NO:72
scR15	SEQ ID NO:73
scR-Fc 1	SEQ ID NO:74
scR-Fc 2	SEQ ID NO:75
scR-Fc 3	SEQ ID NO:76
scR-Fc 4	SEQ ID NO:77
scR-Fc 5	SEQ ID NO:78
scR-Fc 6	SEQ ID NO:79
scR-Fc 7	SEQ ID NO:80
scR-Fc 8	SEQ ID NO:81
scR-Fc 9	SEQ ID NO:82
scR-Fc 10	SEQ ID NO:83
scR-Fc 11	SEQ ID NO:84
scR-Fc 12	SEQ ID NO:85
scR-Fc 13	SEQ ID NO:86
scR-Fc 14	SEQ ID NO:87
scR-Fc 15	SEQ ID NO:88
scR-Fc 16	SEQ ID NO:89
scR-Fc 17	SEQ ID NO:90
scR-Fc 18	SEQ ID NO:91
scR-Var1	SEQ ID NO:92
scR-Var2	SEQ ID NO:93
scR-Var3	SEQ ID NO:94
scR-Var4	SEQ ID NO:95
scR-Var5	SEQ ID NO:96
scR-Var6	SEQ ID NO:97
scR-Var7	SEQ ID NO:98
scR-Var8	SEQ ID NO:99
無標記 scR3	SEQ ID NO:102
無標記 scR4	SEQ ID NO:103
無標記 scR5	SEQ ID NO:104
無標記 scR6	SEQ ID NO:105
無標記 scR7	SEQ ID NO:106
無標記 scR8	SEQ ID NO:107
無標記 scR9	SEQ ID NO:108

建構體	SEQ ID NO
無標記 scR10	SEQ ID NO:109
無標記 scR-Fc 1	SEQ ID NO:110
無標記 scR-Fc 8	SEQ ID NO:111
無標記 scR-Fc 9	SEQ ID NO:112
無標記 scR-Fc 10	SEQ ID NO:113
無標記 scR-Fc 11	SEQ ID NO:114
無標記 scR-Fc 12	SEQ ID NO:115
無標記 scR-Fc 13	SEQ ID NO:116
scR17	SEQ ID NO:158
scR19	SEQ ID NO:160

本發明之 DNA 分子不限於本文揭示之序列，惟亦包括其變異體。本發明內之 DNA 變異體可參考其於雜合時之物理性質予以敘述。熟習工作者將認知，使用核酸雜合技術，DNA 可用於鑑定其互補體及，由於 DNA 為雙股，其等效物或同系物；亦將認知，小於 100%互補性可發生雜合，然而，於特定適當選擇條件下，雜合技術可根據其與特殊探針之結構關係，用以鑑別 DNA 序列間之差異。有關此類條件之指引，參見 Sambrook et al., 1989 (文獻同上)及 Ausubel et al., 1995 [Ausubel, F. M., Brent, R., Kingston, R. E., Moore, D. D., Sedman, J. G., Smith, J. A., & Struhl, K. eds. (1995). Current Protocols in Molecular Biology. New York: John Wiley and Sons]。

二多核苷酸序列間之結構相似性，可表示為二序列彼此雜合之條件"嚴謹度"之函數。本文所用"嚴謹度(stringency)"一詞係指不利雜合條件之程度。嚴謹條件對雜合極為不利，於此條件下，僅有結構最相關之分子彼

此雜合。相反地，不嚴謹條件有利於顯示較小結構相關程度分子之雜合。因此，雜合嚴謹度與二核酸序列之結構關係直接相關。下述關係用於使雜合與相關性互相關聯(其中 T_m 為核酸雙鏈分子之熔解溫度)：

- a. $T_m = 69.3 + 0.41(G+C)\%$
- b. 每增加 1% 誤配鹼基對數，DNA 雙鏈分子之 T_m 下降 1°C 。
- c. $(T_m)_{\mu 2} - (T_m)_{\mu 1} = 18.5 \log_{10} \mu 2 / \mu 1$

其中 $\mu 1$ 與 $\mu 2$ 為二溶液之離子強度。

雜合嚴謹度為許多因子之函數，包括整體 DNA 濃度、離子強度、溫度、探針大小及破壞氫鍵製劑之存在。促進雜合之因子包括高 DNA 濃度、高離子強度、低溫、較長之探針大小及破壞氫鍵製劑不存在。雜合一般分二階段進行：“結合”階段與“洗滌”階段。

首先，於結合階段中，在有利雜合之條件下，使探針與標靶結合。此階段通利用改變溫度控制嚴謹度。就高嚴謹度而言，除非使用短寡核苷酸探針(< 20 個核苷酸)，否則溫度通常介於 65°C 與 70°C 間。代表性雜合溶液包含 6X SSC、0.5% SDS、5X 登哈特(Denhardt)溶液與 100 微克非特異性載體 DNA。參見 Ausubel et al., section 2.9, supplement 27 (1994)。當然，許多不同，惟具相等功能之緩衝條件為已知。相關程度較低時，可選擇較低溫度。低嚴謹度結合溫度介於約 25°C 與 40°C 間；中嚴謹度介於至少約 40°C 至小於約 65°C 間；高嚴

謹度至少約 65°C。

其次，利用洗滌移除過量探針。於此階段，通常施用更嚴謹之條件。因此，此“洗滌”階段在決定經由雜合之相關性上最為重要。洗滌溶液一般含較低之鹽濃度。一例示中嚴謹度溶液含 2X SSC 及 0.1% SDS。高嚴謹度洗滌溶液含小於約 0.2X SSC 之等效物(於離子強度上)，較佳嚴謹溶液含約 0.1X SSC。與各種嚴謹度相關之溫度係與上述有關“結合”之討論相同。洗滌期間，洗滌溶液通常亦更換許多次。舉例而言，一般高嚴謹度洗滌條件包含於 55°C 洗滌 30 分鐘兩次及於 60°C 洗滌 15 分鐘三次。

本發明之具體實例為編碼本發明融合多肽之單離核酸序列。

重組 DNA 建構體及表現

本發明進一步提供包含一或多個本發明核苷酸序列之重組 DNA 建構體。本發明之重組 DNA 建構體用於連接載體，例如質體、噬菌質體、噬菌體或病毒載體，其中插入編碼本發明融合多肽之 DNA 分子。

如本文提供之融合多肽可利用於宿主細胞中重組表現編碼融合多肽之核酸序列予以製備。欲重組表現融合多肽，可用攜帶編碼融合多肽之 DNA 片段之重組表現載體轉染宿主細胞，俾使該融合多肽於宿主細胞中表現。使用例如見述於 Sambrook, Fritsch and Maniatis (eds.), *Molecular Cloning; A Laboratory Manual*, Second

Edition, Cold Spring Harbor, N.Y., (1989) ; Ausubel, F. M. et al. (eds.) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates, (1989)及 Boss 等之美國專利案 No. 4,816,39 中之標準重組 DNA 方法，製備及/或獲得編碼融合多肽之核酸，將彼等核酸併入重組表現載體中及將該等載體引進宿主細胞中。

欲表現融合多肽，可使用標準重組 DNA 表現方法 [參見，例如，Goeddel; Gene Expression Technology. Methods in Enzymology 185, Academic Press, San Diego, Calif. (1990)]。舉例而言，可將編碼所需多肽之 DNA 插入表現載體，然後將其轉染入適當宿主細胞中。適當宿主細胞為原核及真核細胞；原核宿主細胞之實例為例如細菌，真核宿主細胞之實例為酵母、昆蟲或哺乳動物細胞。一般理解，表現載體之設計，包括調控序列之選擇，受諸因素(例如宿主細胞之選擇、所需蛋白質之表現量及表現係構成性或誘導性)之影響。

細菌表現

用於細菌之有效表現載體之建構係利用於具功能性啟動子之可操作閱讀相位中，插入編碼所需蛋白質之結構 DNA 序列連同適當轉譯起始與終止訊號。該載體包含一或多個表現型可選擇標記及複製起始點，以確保維護載體，及需要時，提供於宿主內之擴增。供轉形之適當原核宿主包括大腸桿菌、枯草桿菌(*Bacillus subtilis*)、鼠傷寒沙門桿菌(*Salmonella typhimurium*)及假單孢菌屬

(*Pseudomonas*)、鏈黴菌屬(*Streptomyces*)、與葡萄球菌屬(*Staphylococcus*)諸屬內許多品種。

細菌載體可為，例如，噬菌體、質體或噬菌質體系。彼等載體可含衍生自通常含有熟知之轉殖載體 pBR322 (ATCC 37017)元件之市售可得質體之選擇標記及細菌複製起始點。於適當宿主菌株轉形及該宿主菌株生長至適當細胞密度後，利用適當方法(例如，溫度轉變或化學誘導)將選擇之啟動子去抑制/誘導，使細胞再培養一段時期。通常以離心法收集細胞，利用物理或化學方式破壞，並保留所得粗萃取液供進一步純化。

於細菌系統中，視表現蛋白質之意指用途，可有利地選擇一些表現載體。舉例而言，當欲產生大量此類蛋白質時，可能需要引導大量表現容易純化之融合多肽產物之載體。本發明之融合多肽包括純化之產物、化學合成程序之產物、及利用重組技術自原核宿主(包括，例如，大腸桿菌、枯草桿菌、鼠傷寒沙門桿菌及假單孢菌屬、鏈黴菌屬、與葡萄球菌屬諸屬內許多品種，較佳為自大腸桿菌細胞)生產之產物。

真核細胞表現

真核細胞可用於表現本發明多肽；表現蛋白質之系統為此項技藝中已知。此類系統包括例如真核細胞、生長培養基、與相應之表現載體。常見供表現之真核細胞為例如哺乳動物細胞、酵母細胞、植物細胞、或昆蟲細胞。

哺乳動物表現及純化

哺乳動物宿主細胞表現之較佳調控序列包括引導於哺乳動物細胞中大量表現蛋白質之病毒元件，例如衍生自細胞巨大病毒(CMV) (例如，CMV 動子/增強子)、猿猴病毒 40 型(SV40) (例如，SV40 啟動子/增強子)、腺病毒[例如，腺病毒主要晚期啟動子(AdMLP)]與多瘤病毒之啟動子及/或增強子。有關病毒調控元件及其序列之進一步敘述，參見例如 Stinski 之 U.S. 5,168,062、Bell 等之 U.S. 4,510,245 及 Schaffner 等之 U.S. 4,968,615。重組表現載體亦可包括複製起始點及可選擇標記(參見例如 Axel 等之 U.S. 4,399,216、4,634,665 與 U.S. 5,179,017)。適當可選擇標記包括賦予已引進載體之宿主細胞對藥劑(例如 G418、潮黴素或胺甲喋呤)之抗性之基因。舉例而言，二氫葉酸還原酶(DHFR)基因賦予對胺甲喋呤之抗性，及抗新黴素基因賦予對 G418 之抗性。

表現載體之轉染入宿主細胞，可使用標準技術進行，例如電穿孔法、磷酸鈣沈澱法、及 DEAE-聚葡萄糖法、脂質體轉染或多價陽離子傳介之轉染。

用於表現本文提供之融合多肽之適當哺乳動物宿主細胞包括中國倉鼠卵巢(CHO 細胞)[包括與見述於例如 R. J. Kaufman and P. A. Sharp (1982) Mol. Biol. 159:601-621 中之 DHFR 可選擇標記一起使用之見述於 Urlaub and Chasin, (1980) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4216-4220 中之 dhfr- CHO 細胞]、NSO 骨髓瘤細胞、

COS 細胞與 SP2 細胞。於若干具體實例中，係設計表現載體，俾使表現之蛋白質分泌至宿主細胞生長之培養基中。抗體之短暫轉染/表現可例如根據 Durocher et al (2002) Nucl.Acids Res. Vol 30 e9 之實驗流程達成；抗體之穩定轉染/表現可例如根據 UCOE 系統[T. Benton et al. (2002) Cytotechnology 38: 43–46]之實驗流程達成。

可使用標準蛋白質純化方法從培養基中回收融合多肽。

本發明之融合多肽可利用熟知方法，包括惟不限於硫酸銨或乙醇沉澱法、酸萃取法、蛋白 A 層析法、蛋白 G 層析法、陰離子或陽離子交換層析法、磷酸纖維素層析法、疏水作用層析法、親和層析法、羥基磷灰石層析法與凝集素層析法，從重組細胞培養中回收及純化。高效液相層析法(“HPLC”)亦可用於純化。參見，例如，Colligan, Current Protocols in Immunology、或 Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y., (1997-2001)，例如第 1、4、6、8、9、10 章，各者全部內容均併入本文以資參考。

本發明之融合多肽包括純化或單離之產物、化學合成程序之產物、及利用重組技術自真核宿主{包括，例如，酵母[例如畢赤酵母菌屬(*Pichia*)]、高等植物、昆蟲與哺乳動物細胞，較佳為自哺乳動物細胞)生產之產物。視重組生產程序中所用宿主之不同，本發明之融合多肽可為糖基化或非糖基化，惟以糖基化較佳。此類方法見

述於許多標準實驗室手冊中，例如 Sambrook，文獻同上，第 17.37-17.42 節；Ausubel，文獻同上，第 10、12、13、16、18 與 20 章。

治療用途

本發明之具體實例為使用本發明醫藥組成物或融合多肽治療心血管疾病、腎臟疾病、胰臟炎、炎症、癌症、硬皮病、肺、腎、與肝纖維化之用途。

心血管疾病

心血管系統疾患，或心血管疾病，於本發明說明書中意指例如下述疾患：高血壓、末梢與心臟血管疾患、冠心病、穩定與不穩定型心絞痛、心肌功能不全、持續缺血性功能障礙("休眠性心肌")、暫時性缺血後功能障礙("暈眩性心肌")、心臟衰竭、末梢血流異常、急性冠狀動脈症候群、心臟衰竭與心肌梗塞。

於本發明說明書中，心臟衰竭一詞包括急性與慢性兩種心臟衰竭表現，以及更具體或相關之疾病類型，例如急性非代償性心臟衰竭、右心衰竭、左心衰竭、整體衰竭、缺血性心肌病變、擴張性心肌病變、先天性心臟缺陷、心瓣膜缺陷、與心瓣膜缺陷關聯之心臟衰竭、二尖瓣狹窄、二尖瓣閉鎖不全、主動脈瓣狹窄、主動脈瓣閉鎖不全、三尖瓣狹窄、三尖瓣閉鎖不全、肺動脈瓣狹窄、肺動脈瓣閉鎖不全、複合型心瓣膜缺陷、心肌炎症(心肌炎)、慢性心肌炎、急性心肌炎、病毒性心肌炎、糖尿病性心臟衰竭、酒精性心肌病變、心臟儲積疾患、及舒

張型與收縮型心臟衰竭與急性階段惡化心臟衰竭。

根據本發明之化合物進一步亦適用於減少受梗塞影響之心肌範圍，及用於預防二次梗塞。

再者，根據本發明之化合物適用於預防及/或治療血栓性栓塞疾患、缺血後再灌流傷害、微血管與大血管病變(血管炎)、動脈與靜脈血栓症、水腫、局部缺血例如心肌梗塞、中風與短暫性腦缺血發作；適用於與冠狀動脈繞道手術(CABG)、原發性經皮冠狀動脈血管成形術(PTCA)、血栓溶解後之 PTCA、拯救性 PTCA、心臟移植與開心手術相關之心臟保護；及適用於與移植、繞道手術、心導管檢查與其他外科程序相關之器官保護。

其他適應症範圍為，例如，預防及/或治療呼吸系統疾患，舉例而言，如，慢性阻塞性肺部疾病(慢性支氣管炎，COPD)、氣喘、肺氣腫、支氣管擴張症、囊狀纖維化症(胰管纖維性囊腫)及肺部高血壓，尤其是肺部動脈高血壓。

腎臟疾病

本發明係有關使用本發明融合多肽作為預防及/或治療腎臟疾病之藥劑之用途，彼等腎臟疾病尤指急性與慢性腎臟疾病及急性與慢性腎功能不全，以及急性與慢性腎衰竭，包括需要及不需要透析之急性與慢性階段腎衰竭，以及潛在或相關之腎臟疾病例如腎臟灌流不足、透析誘發之低血壓、非炎性腎小球病變、腎小球性與腎小管性蛋白尿、腎水腫、血尿、原發性、繼發性、以及

急性與慢性腎小球性腎炎、膜性與膜增殖性腎小球性腎炎、亞伯氏(Alport)症候群、腎小球硬化、腎小管間質病變、腎病(例如原發性與天生腎臟病)、腎發炎、免疫性腎病如腎移植排斥、免疫複合物誘發之腎病、以及中毒誘發之腎病、糖尿病性與非糖尿病性腎病、腎盂腎炎、囊腫性腎臟、腎硬化、高血壓性腎硬化、腎病症候群；彼等疾病之特徵及於診斷上與肌酸酐清除率及/或水份排泄異常減少、血液中尿素、氮、鉀及/或肌酸酐濃度異常增加、例如麩胺醯合成酶之腎臟酵素活性、尿液滲透壓與尿液量改變、增加之微量白蛋白尿、巨量白蛋白尿、腎小球與小動脈病變、腎小管擴張、高磷酸鹽血症及/或透析需求相關。

此外，本發明融合多肽可作為預防及/或治療腎臟不完全切除後之腎臟癌、過度使用利尿劑後之脫水、不能控制之帶有惡性高血壓之血壓上升、泌尿道阻塞與感染、類澱粉變性症、以及與腎小球損傷關聯之系統性疾病(例如紅斑性狼瘡、與風濕性免疫系統性疾病)、以及腎臟動脈狹窄、腎臟動脈血栓症、腎臟靜脈血栓症、止痛劑誘發之腎病變與腎小管性酸血症之藥劑用。

此外，本發明之融合多肽可作為預防及/或治療顯影劑(contrast medium)誘發及藥物誘發之急性與慢性間質性腎臟病、代謝症候群與異常血脂症之藥劑用。

此外，本發明包括使用本發明融合多肽作為藥劑以預防及/或治療與急性及/或慢性腎臟疾病例如肺水腫、

心臟衰竭、尿毒症、貧血、電解質異常(例如，高鉀血症、低鈉血症)、以及骨質與碳水化合物代謝相關之副作用之用途。

肺部疾病

再者，根據本發明之融合多肽亦適用於治療及/或預防肺部疾病，尤其是氣喘疾患、肺部動脈高血壓(PAH)與其他形式之肺部高血壓(PH)包括左心臟疾病、HIV、鐮刀狀細胞性貧血症、血栓栓塞(CTEPH)、類肉瘤症、COPD 或肺部纖維化關聯之肺部高血壓、慢性阻塞性肺部疾病(COPD)、急性呼吸窘迫症候群(ARDS)、急性肺損傷(ALI)、 α -1-抗胰蛋白酶缺乏症(AATD)、肺部纖維化、肺氣腫(例如香煙煙霧誘發之肺氣腫)及囊狀纖維化症(CF)。

纖維化疾患

根據本發明之融合多肽再者適用於治療及/或預防內部器官(例如，肺臟、心臟、腎臟、骨髓及特別是肝臟)之纖維化疾患、以及皮膚纖維化與纖維化眼睛疾患。於本發明說明書中，纖維化疾患一詞特別包含下述諸詞：肝纖維化、肝硬化、肺部纖維化、心內膜肌纖維化、腎病變、腎小球性腎炎、腎間質性纖維化、糖尿病引起之纖維化傷害、骨髓纖維化與類似之纖維化疾患、硬皮病、硬斑病、疤痕增長症、結肥厚疤(亦繼外科手術後)、痣、糖尿病性視網膜病變、增殖性玻璃體視網膜病變與結締組織疾患(例如類肉瘤症)。

癌症

癌症為一群細胞展現不受控制之生長之疾病。癌症通常被分類為衍生自上皮細胞癌症之惡性腫瘤(此組涵蓋許多最常見之癌症，包括乳癌、攝護腺癌、肺癌與結腸癌)；衍生自結締組織、或間葉細胞之肉瘤；衍生自造血細胞之淋巴瘤與白血病；衍生自多功能性細胞(pluripotent)之生殖細胞腫瘤；及衍生自未成熟之"前驅"或胚胎組織之癌症之胚細胞瘤。

本發明此外提供使用本發明融合多肽製備藥劑以供治療及/或預防諸疾患(特別是上述諸疾患)之用途。

本發明此外提供使用有效量之至少一種本發明融合多肽治療及/或預防諸疾患(特別是上述諸疾患)之方法。

本發明此外提供於治療及/或預防冠心病、急性冠狀動脈症候群、心臟衰竭、與心肌梗塞方法中使用之本發明融合多肽。

醫藥組成物及投與

本發明亦提供一種醫藥組成物，其含有於藥物學上可接受之媒介物中之單鏈鬆弛素融合蛋白；該單鏈鬆弛素融合蛋白可全身性或局部投與；可使用此項技藝中已知之任何適當投與方式，包括，惟不限於，靜脈內、腹膜內、動脈內、鼻內、利用吸入法、經口、皮下投與、利用局部注射或呈手術植入物形式。

本發明亦有關一種醫藥組成物，其可包含單獨或組合至少一種其他製劑[例如可於任何無菌、生物相容之醫

藥載劑(包括，惟不限於，鹽液、緩衝鹽液、葡萄糖、與水)中投與之安定化化合物]之本發明融合多肽。任何彼等分子可單獨、或組合其他製劑、藥物或激素，於與(諸)賦形劑或醫藥上可接受之載劑混合之醫藥組成物中投與病患。本發明之一具體實例中，醫藥上可接受之載劑於醫藥上具惰性。

本發明亦有關醫藥組成物之投與；此類投與係經口或非經腸而達成。非經腸遞送方法包括局部、動脈內、肌內、皮下、髓內、鞘內、心室內、靜脈內、腹膜內、或鼻內投與。除了活性成分外，彼等醫藥組成物可含有包含醫藥上可使用及促進活性化合物加工成為製劑之賦形劑與輔助劑之適當醫藥上可接受之載劑。有關調配及投與之進一步細節可於最新版之 Remington's Pharmaceutical Sciences (Ed. Maack Publishing Co, Easton, Pa.)中找到。

經口投與用之醫藥組成物可使用此項技藝中熟知之醫藥上可接受之載劑，呈適用於口服投與之劑量調配。此類載劑使醫藥組成物得以調配為供病患攝取用之錠劑、丸劑、糖衣錠、膠囊、液體、凝膠、糖漿、漿劑、懸浮劑等。

用於非經腸投與之醫藥調配物包含活性化合物之水性溶液。供注射用時，本發明醫藥組成物可於水性溶液[較佳為生理上相容之緩衝液例如漢克(Hank)溶液、林格(Ringer)溶液、或生理緩衝鹽液]中調配。水性注射懸浮

劑可含增加懸浮劑黏性之物質，例如羧甲基纖維素鈉、山梨糖醇、或葡聚糖。附加地，活性化合物懸浮劑可製備為適當油性注射懸浮劑。適當之親脂性溶劑或媒介物包括脂肪油例如芝麻油、或合成之脂肪酸酯類例如油酸乙酯或三酸甘油酯類、或脂質體。視需要，懸浮劑亦可含適當穩定劑或增加化合物溶解度使得以製備高度濃縮溶液之製劑。

根據本發明之融合多肽可單獨或，需要時，與其他活性化合物組合使用。本發明此外提供特別是用於治療及/或預防上述疾患之包含至少一種根據本發明融合多肽及一或多種進一步活性成分之藥劑。

供組合用之適當活性成分，舉例而言及優先考慮使用：調節脂質代謝之活性成分、抗糖尿病劑、低血壓劑、增進灌注及/或抗血栓製劑、抗氧化劑、趨化素受體拮抗劑、p38-激酶抑制劑、NPY 促效劑、食慾激素促效劑、降食慾劑、PAF-AH 抑制劑、消炎劑(COX 抑制劑、LTB₄-受體拮抗劑)、止痛劑(例如阿司匹靈)、抗抑鬱劑及其他精神病藥物。

本發明特別是有關至少一種根據本發明融合多肽與至少一種改變脂質代謝之活性成分、抗糖尿病劑、降血壓活性成分及/或具抗血栓作用製劑之組合物。

根據本發明之融合多肽較佳為與一或多種下述活性成分組合：

- 調整脂質代謝之活性成分，舉例而言及優先考慮得自 HMG-CoA 還原酶抑制劑、HMG-CoA 還原酶表現抑制劑、角鯊烯合成抑制劑、ACAT 抑制劑、LDL 受體感應器、膽固醇吸收抑制劑、聚合膽汁酸吸附劑、膽汁酸再吸收抑制劑、MTP 抑制劑、脂肪酶抑制劑、LpL 活化劑、纖維酸類、菸鹼酸、CETP 抑制劑、PPAR- α 、PPAR- γ 及/或 PPAR- δ 促效劑、RXR 調節劑、FXR 調節劑、LXR 調節劑、甲狀腺激素及/或甲狀腺模擬劑、ATP 檸檬酸鹽裂解酶抑制劑、Lp(a)拮抗劑、大麻素受體 1 拮抗劑、瘦素受體促效劑、鈴蟾素受體促效劑、組織胺受體促效劑及抗氧化劑/自由基清除劑組群者；
- 於 Rote Liste 2004/II 第 12 章中述及之抗糖尿病劑，以及，舉例而言及優先考慮得自磺醯脲類、雙胍類、美格替耐(meglitinide)衍生物、葡萄糖苷酶抑制劑、二肽基肽酶 IV 抑制劑(DPP-IV 抑制劑)、噁二唑啉酮類、噻唑啉二酮類、GLP 1 受體促效劑、升糖素拮抗劑、胰島素增敏劑、CCK 1 受體促效劑、瘦素受體促效劑、涉及刺激糖質新生及/或肝醣分解之肝酵素抑制劑、葡萄糖攝取調節劑以及鉀離子通道開放劑(舉例而言，如，揭示於 WO 97/26265 與 WO 99/03861 者)組群者；
- 降血壓活性成分，舉例而言及優先考慮得自鈣拮抗劑、血管收縮素 AII 拮抗劑、ACE 抑制劑、腎素抑制劑、 β -受體阻斷劑、 α -受體阻斷劑、醛固酮拮抗劑、

礦物性皮質素受體拮抗劑、ECE 抑制劑、ACE/NEP 抑制劑及血管肽酶抑制劑組群者；及/或

- 抗血栓劑，舉例而言及優先考慮得自血小板凝集抑制劑或抗凝血劑組群者；
- 利尿劑；
- 血管加壓素受體拮抗劑；
- 有機硝酸酯類與 NO 供體；
- 具正面影響心肌收縮活性之化合物；
- 抑制環鳥苷單磷酸(cGMP)及/或環腺苷單磷酸(cAMP)降解之化合物，舉例而言，如，磷酸二酯酶(PDE) 1、2、3、4 及/或 5 抑制劑，特別是 PDE 5 抑制劑，例如西地那非(sildenafil)、樂威壯(vardenafil)與犀利士(tadalafil)，以及 PDE 3 抑制劑，例如米力農(milrinone)；
- 利尿肽舉例而言，如，"心房利尿肽" [ANP，阿那立肽(anaritide)]、"B 型利尿肽"或"腦利尿肽" [BNP，奈西立肽(nesiritide)]、"C 型利尿肽" (CNP)以及利尿鈉肽(urodilatin)；
- 前列環素受體(IP 受體)促效劑，舉例而言，如，伊洛前列素(iloprost)、貝拉前列素(beraprost)、西卡前列素(cicaprost)；
- I_f通道(奇趣通道)抑制劑，舉例而言，如，伊伐布雷定(ivabradine)；

- 鈣增敏劑，如，舉例而言及優先考慮，左西孟旦(levosimendan)；
- 鉀補充劑；
- 無關 NO，惟依賴血紅素之鳥苷酸環化酶刺激劑，例如，特別是，見述於 WO 00/06568, WO 00/06569, WO 02/42301 與 WO 03/095451 中之化合物；
- 無關 NO 與血紅素之鳥苷酸環化酶活化劑，例如，特別是，見述於 WO 01/19355、WO 01/19776、WO 01/19778、WO 01/19780、WO 02/070462 與 WO 02/070510 中之化合物；
- 人類嗜中性細胞彈性蛋白酶(HNE)抑制劑，舉例而言，如，西維來司(sivelestat)與 DX-890 (Reltran)；
- 抑制訊息傳遞級聯之化合物，舉例而言，如，酪胺酸激酶抑制劑，特別是索拉非尼(sorafenib)、依馬替尼(imatinib)、吉非替尼(gefitinib)與爾洛替尼(erlotinib)；及/或
- 調節心臟能量代謝之化合物，舉例而言，如，乙莫克舍(etomoxir)、二氯乙酸鹽、雷諾吡(ranolazine)與曲美他吡(trimetazidine)。

修飾脂質代謝之活性成分欲被理解為意指，較佳為，得自 HMG-CoA 還原酶抑制劑、角鯊烯合成抑制劑、ACAT 抑制劑、膽固醇吸收抑制劑、MTP 抑制劑、脂肪酶抑制劑、甲狀腺激素及/或甲狀腺模擬劑、菸鹼酸受體促效劑、CETP 抑制劑、PPAR- α 促效劑、PPAR- γ 促效劑、PPAR- δ 促效劑、聚合膽汁酸吸附劑、膽汁酸再吸收抑制

劑、抗氧化劑/自由基清除劑以及大麻素受體 1 拮抗劑組群之化合物。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與得自他汀類之 HMG-CoA 還原酶抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，洛伐他汀(lovastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、普拉伐他汀(pravastatin)、氟伐他汀(fluvastatin)、阿托伐他汀(atorvastatin)、羅素他汀(rosuvastatin)或匹伐他汀(pitavastatin)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與角鯊烯合成抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，BMS-188494 或 TAK-475。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 ACAT 抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，阿瓦西邁(avasimibe)、美利那邁(melinamide)、帕替邁(pactimibe)、伊福西邁(eflucimibe)或 SMP-797。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與膽固醇吸收抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，伊增替邁(ezetimibe)、替奎安(tiqueside)或帕馬昔(pamaqueside)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 MTP 抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，英利塔派(implitapide)、BMS-201038、R-103757 或 JTT-130。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽

係與脂肪酶抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，奧利司他(orlistat)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與甲狀腺激素及/或甲狀腺模擬劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，D-甲狀腺素或 3,5,3'-三碘甲狀腺胺酸(T3)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與菸鹼酸受體促效劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，菸鹼酸、阿昔莫司(acipimox)、阿昔呋喃(acifran)或瑞帝可(radecol)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 CETP 抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，達塞曲匹(dalcetrapib)、BAY 60-5521、安塞曲匹(anacetrapib)或 CETP 疫苗(CETi-1)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與例如得自噻唑啉二酮類之 PPAR- γ 促效劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，吡格列酮(pioglitazone)或羅格列酮(rosiglitazone)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 PPAR- δ 促效劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，GW-501516 或 BAY 68-5042。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與聚合膽汁酸吸附劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，消膽胺(cholestyramine)、考來替泊(colestipol)、

考來索凡 (colesolvam)、CholestaGel 或考來替邁 (colestimide)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與膽汁酸再吸收抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，ASBT (= IBAT) 抑制劑舉例而言，如，AZD-7806、S-8921、AK-105、BARI-1741、SC-435 或 SC-635。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與抗氧化劑/自由基清除劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，普羅布考 (probucol)、AGI-1067、BO-653 或 AEOL-10150。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與大麻素受體 1 拮抗劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，利莫納班 (rimonabant) 或 SR-147778。

抗糖尿病劑欲被理解為意指，較佳為，胰島素與胰島素衍生物，以及口服有效之降血糖活性成分。於此，胰島素與胰島素衍生物包括動物、人類或生物技術來源之胰島素以及其混合物。口服有效之降血糖活性成分較佳為包括磺醯脲類、雙胍類、美格替耐衍生物、葡萄糖苷酶抑制劑與 PPAR- γ 促效劑。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與胰島素組合投與。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與磺醯脲組合投與，如，舉例而言及優先考慮，甲苯

磺丁脲、格列苯脲(glibenclamide)、格列美脲(glimepiride)、泌樂得(glipizide)或甲磺雙環脲(gliclazide)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與雙胍類組合投與，如，舉例而言及優先考慮，二甲雙胍。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與美格替耐衍生物組合投與，如，舉例而言及優先考慮，瑞格列耐(repaglinide)或那格列耐(nateglinide)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與葡萄糖苷酶抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，米格列醇(miglitol)或阿卡波糖(acarbose)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 DPP-IV 抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，西他列汀(sitagliptin)與維格列汀(vildagliptin)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與例如得自噻唑啉二酮類之 PPAR- γ 促效劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，吡格列酮或羅格列酮。

低血壓劑較佳為被理解為意指得自鈣拮抗劑、血管收縮素 AII 拮抗劑、ACE 抑制劑、 β -受體阻斷劑、 α -受體阻斷劑與利尿劑組群之化合物。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與鈣拮抗劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，硝苯地平(nifedipine)、氨氯地平(amlodipine)、維拉帕米

(verapamil)或地爾硫卓(diltiazem)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與血管收縮素 AII 拮抗劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，氯沙坦(losartan)、缬沙坦(valsartan)、坎地沙坦(candesartan)、恩布沙坦(embusartan)、奧美沙坦(olmesartan)或替米沙坦(telmisartan)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 ACE 抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，依那普利(enalapril)、卡托普利(captopril)、賴諾普利(lisinopril)、雷米普利(ramipril)、地拉普利(delapril)、福辛普利(fosinopril)、喹那普利(quinopril)、培朵普利(perindopril)或群多普利(trandopril)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 β -受體阻斷劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，普萘洛爾(propranolol)、阿替洛爾(atenolol)、噻嗎洛爾(timolol)、吲哚洛爾(pindolol)、阿普洛爾(alprenolol)、氧烯洛爾(oxprenolol)、噴布洛爾(penbutolol)、布洛洛爾(bupranolol)、美替洛爾(metipranolol)、納多洛爾(nadolol)、美吲哚洛爾(mepindolol)、卡拉洛爾(carazalol)、索他洛爾(sotalol)、美托洛爾(metoprolol)、倍他洛爾(betaxolol)、塞利洛爾(celiprolol)、比索洛爾(bisoprolol)、卡替洛爾(carteolol)、艾司洛爾(esmolol)、拉貝洛爾(labetalol)、卡維地洛(carvedilol)、阿達洛爾(adaprolol)、蘭地洛爾(landiolol)、奈必洛爾(nebivolol)、

依泮洛爾(epanolol)或佈新洛爾(bucindolol)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 α -受體阻斷劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，哌唑嗪(prazosin)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與利尿劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，服樂泄麥(furosemide)、布美他尼(bumetanide)、托泄麥(torsemide)、苺氯噻吡(bendroflumethiazide)、氯噻吡(chlorothiazide)、氫氯噻吡(hydrochlorothiazide)、氫苺噻吡(hydroflumethiazide)、甲氯噻吡(methyclothiazide)、泊利噻吡(polythiazide)、三氯噻吡(trichloromethiazide)、氯噻酮(chlorothalidone)、吲達帕胺(indapamide)、美托拉宗(metolazone)、喹乙唑酮(quinethazone)、乙醯唑胺(acetazolamide)、二氯苯磺胺(dichlorophenamide)、甲醋唑胺(methazolamide)、甘油、異山梨醇、甘露糖醇、阿米洛利(amiloride)或胺苯喋啶(triamteren)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與醛固酮或礦物性皮質素受體拮抗劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，螺內酯或依普利酮(eplerenone)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與血管加壓素受體拮抗劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，考尼伐坦(conivaptan)、托伐普坦(tolvaptan)、利昔伐坦(lixivaptan)或 SR-121463。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽

係與有機硝酸酯或 NO 供體，如，舉例而言及優先考慮，硝普鈉(sodium nitroprusside)、硝酸甘油、單硝酸異山梨酯、二硝酸異山梨酯、嗎多明(molsidomin)或 SIN-1，或與吸入性 NO 組合投與。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與正面影響心肌收縮之化合物組合投與，如，舉例而言及優先考慮，強心配糖體[地高辛(digoxin)]、 β -腎上腺素與多巴胺能促效劑例如異丙腎上腺素(isoproterenol)、腎上腺素(adrenaline)、去甲腎上腺素、多巴胺或多巴酚丁胺(dobutamine)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與抗交感神經藥物(antisymphotonics)例如利血平(reserpine)、可樂定(clonidine)或 α -甲基多巴(α -methyldopa)，或與鉀通道促效劑例如米諾地爾(minoxidil)、二氮吡(diazoxide)、雙肼肽吡(dihydralazine)或肼屈吡(hydralazine)，或與釋放氧化氮之物質[例如甘油硝酸酯或硝普鈉]組合投與。

抗血栓劑欲被理解為意指，較佳為，得自血小板聚集抑制劑或抗凝血劑組群之化合物。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與血小板聚集抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，阿司匹靈、氯吡格雷(clopidogrel)、噻氯匹定(ticlopidine)或雙嘧達莫(dipyridamol)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽

係與凝血酶抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，希美加群(ximelagatran)、美拉加群(melagatran)、達比加群(dabigatran)、比伐盧定(bivalirudin)或克立生(clexane)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 GPIIb/IIIa 拮抗劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，替羅非班(tirofiban)或阿昔單抗(abciximab)。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與 Xa 因子抑制劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，利伐沙班(rivaroxaban)(BAY 59-7939)、DU-176b、阿哌沙班(apixaban)、奧米沙班(otamixaban)、非代沙班(fidexaban)、拉扎沙班(razaxaban)、磺達肝癸(fondaparinux)、依居帕努(idraparinux)、PMD-3112、YM-150、KFA-1982、EMD-503982、MCM-17、MLN-1021、DX 9065a、DPC 906、JTV 803、SSR-126512 或 SSR-128428。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與肝素或低分子量(LMW)肝素衍生物組合投與。

於本發明較佳具體實例中，根據本發明之融合多肽係與維生素 K 拮抗劑組合投與，如，舉例而言及優先考慮，香豆素。

於本發明說明書中，特別優先考慮使用包含至少一種根據本發明之融合多肽以及一或多種選自包括 HMG-CoA 還原酶抑制劑(他汀類)、利尿劑、 β -受體阻斷劑、有機硝酸酯與 NO 供體、ACE 抑制劑、血管收縮素

AII 拮抗劑、醛固酮與礦物性皮質素受體拮抗劑、血管加壓素受體拮抗劑、血小板聚集抑制劑與抗凝血劑組群之進一步活性成分之組合物，以及其治療及/或預防上述疾患之用途。

再者，本發明提供包含通常與一或多種惰性無毒之醫藥上適當之輔助劑一起之至少一種根據本發明融合多肽之藥劑，以及其供上述目的之用途。

有效治療劑量

適用於本發明之醫藥組成物包括其中含有效量之活性成分以達成意指目的(例如心臟衰竭)之組成物。有效劑量之決定完全在熟習此項技藝者能力範圍之內。

就任何化合物而言，有效治療劑量最初可於體外試驗(例如 LGR7 受體活化作用)中、擬體內於離體灌流大鼠心臟中、或於動物模式(通常為小鼠、兔、狗、或豬)中評估。動物模式亦用以達成期望之濃度範圍及投與途徑。然後可使用此等資訊確定於人體中之有用劑量及投與途徑。

有效治療劑量係指改善症狀或健康狀態之融合多肽之量。此等化合物之治療功效與毒性可於體外或實驗動物中利用標準醫藥程序測定，例如，ED50 (50%族群治療有效之劑量)與 LD50 (使 50%族群致命之劑量)。治療與毒性效應間之劑量比為治療指數，可以 ED50/LD50 比表示；以展現大的治療指數之醫藥組成物較佳。使用從體外試驗及動物研究獲得之數據制定供人類使用之劑

量範圍。此等化合物之劑量最好在包含極少或無毒性 ED50 之循環濃度範圍內。此範圍內之劑量視所用劑量型、病患敏感性、及投與途徑而不同。

視投與途徑而定，正常劑量可從總劑量 0.1 至 100,000 毫克有所不同。文獻中提供有關特定劑量及遞送方法之指引；參見美國專利案 No. 4,657,760；5,206,344；或 5,225,212。熟習此項技藝者使用比蛋白質或其抑制劑多之多核苷酸之不同調配物。同樣地，多核苷酸或多肽之遞送對特定細胞、條件、位置等具特異性。

茲利用下述實施例進一步敘述本發明。所提供之實施例僅藉由參照詳細具體實例說明本發明。彼等例示，於說明本發明特定具體態樣之同時，不擬對所揭示發明之範圍構成侷限。

除非另行詳細說明，否則所有實施例均使用熟習此項技藝者熟知及例行之標準技術進行。下述實施例之例行分子生物學技術可如標準實驗室手冊(例如 Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2nd Ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1989)所述進行。

進一步較佳具體實例為：

1. 一種具有包含 A-L-B 之鬆弛素活性之融合多肽，
其中
B 包含鬆弛素 B 鏈多肽或其功能性變異體，
A 包含鬆弛素 A 鏈多肽或其功能性變異體，及

L 係連接子多肽。

2. 根據第 1 項之融合多肽，

其中

B 係鬆弛素 B 鏈多肽或其功能性變異體，

A 係鬆弛素 A 鏈多肽或其功能性變異體，及

L 係連接子多肽。

3. 根據第 1 或 2 項之融合多肽，其中該鬆弛素 B 鏈係鬆弛素 2B 或鬆弛素 3B 鏈。

4. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該鬆弛素 A 鏈係鬆弛素 2A 或鬆弛素 3A 鏈。

5. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該鬆弛素 A 鏈係鬆弛素 2A 鏈。

6. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該鬆弛素 A 鏈係鬆弛素 3A 鏈。

7. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該鬆弛素 A 鏈係鬆弛素 2A 鏈及該鬆弛素 B 鏈係鬆弛素 2B 鏈。

8. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該鬆弛素 A 及 B 鏈為人類鬆弛素 A 及 B 鏈。

9. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該融合多肽進一步包含至少一個延長之半衰期基團。

10. 根據第 9 項之融合多肽，其中該半衰期延長之基團係非蛋白性質或蛋白性質半衰期延長基團。

11. 根據第 9 或 10 項之融合多肽，其中該多肽具下式



式中

R1 與 R2 係蛋白性質半衰期延長基團，

S1 與 S2 係延伸胜肽，

及其中 m、n、o 與 p 獨立地為數字 0 或 1，惟 m、n、o 與 p 至少一者為 1。

12. 根據第 11 項之融合多肽，其中 m 與 n 為 0 及 o 與 p 為 1。
13. 根據第 11 項之融合多肽，其中 m 與 n 為 1 及 o 與 p 為 0。
14. 根據第 11 項之融合多肽，其中 m 為 1 及 n、o 與 p 為 0。
15. 根據第 11 項之融合多肽，其中 m、n 與 o 為 0 及 p 為 1。
16. 根據第 11 至 15 項之任一項之融合多肽，其中 R1 與 R2 係包含於由免疫球蛋白 Fc 功能區、血清白蛋白、轉鐵蛋白與血清白蛋白結合蛋白構成之蛋白性質半衰期延長基團組群中之蛋白性質半衰期延長基團。
17. 根據第 10 至 16 項之任一項之融合多肽，其中該蛋白性質半衰期延長基團係 IgG1 Fc 功能區。
18. 根據第 10 至 17 項之任一項之融合多肽，其中該蛋白性質半衰期延長基團為人類。
19. 根據第 10 項之融合多肽，其中該非蛋白性質半衰期延長基團係 PEG 或 HES。
20. 根據第 11 至 19 項之任一項之融合多肽，其中該延伸

- 多肽 S1 與 S2 為 1 至 25 個胺基酸長。
21. 根據第 11 至 20 項之任一項之融合多肽，其中該延伸多肽 S1 與 S2 為 4 至 10 個胺基酸長，較佳為 10 個胺基酸長。
 22. 根據第 21 項之融合多肽，其中該延伸多肽 S1 與 S2 包含於由 SEQ ID NO: 148、SEQ ID NO: 149、與 SEQ ID NOs: 150 所揭示多肽構成之延伸多肽組群中。
 23. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 為 6 至 14 個胺基酸長。
 24. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 為 7 至 11 個胺基酸長。
 25. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 為 8、9、或 10 個胺基酸長。
 26. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 為 9 個胺基酸長。
 27. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 包含於由具有 6、7、8、9、10、11、12、13 與 14 個胺基酸長的連接子構成之連接子組群中。
 28. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中於連接子多肽 L 中，除 4 個胺基酸殘基外之該連接子 L 全部由 Gly 及/或 Ser 殘基構成，其餘 4 個胺基酸殘基則係選自天然胺基酸之組群。
 29. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 至少包含一個 Gly、Ser、Arg、Cys、Leu 及/或 Lys

殘基。

30. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 包含 Gly 與 Ser 殘基。
31. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 由 Gly 與 Ser 殘基構成。
32. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 包含 Gly 與 Ser 殘基，且 Gly 對 Ser 之比例至少為 3 比 1。
33. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 包含於由如 SEQ ID NO: 137、SEQ ID NO: 138、SEQ ID NO: 139、SEQ ID NO: 140、SEQ ID NO: 141、SEQ ID NO: 142、SEQ ID NO: 143、SEQ ID NO: 145 與 SEQ ID NO: 146 所揭示多肽構成之連接子多肽組群中。
34. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中該鬆弛素 A 鏈為人類鬆弛素 2 A 鏈(SEQ ID NO: 117)，及鬆弛素 B 鏈為人類鬆弛素 2 B 鏈(SEQ ID NO: 119)。
35. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中 A 係人類鬆弛素 2 A 鏈(SEQ ID NO: 117)，及 B 係人類鬆弛素 2 B 鏈(SEQ ID NO: 119)。
36. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其包含如表 3 所述之多肽。
37. 根據前述諸項任一項之融合多肽，其中 A-L-B 係選自包括 scR3、scR4、scR5、無標記 scR3、無標記 scR4、

無標記 scR5、scR-Fc5、scR-Fc6 與 scR-Fc7 之 A-L-B 多肽組群。

38. 一種如表 3 所述之融合多肽。
39. 一種融合多肽，其係選自包括 scR3、scR4、scR5、無標記 scR3、無標記 scR4、無標記 scR5、scR-Fc5、scR-Fc6 與 scR-Fc7 之組群。
40. 一種多核苷酸，其編碼根據前述諸項任一項之融合多肽。
41. 一種載體，其包含根據第 40 項之多核苷酸。
42. 一種宿主細胞，其包含根據第 41 項之載體或根據第 40 項之多核苷酸。
43. 根據第 42 項之宿主細胞，其中該宿主細胞為真核或原核細胞。
44. 根據第 42 或 43 項之宿主細胞，其中該真核宿主細胞為哺乳動物、酵母、昆蟲或植物細胞。
45. 根據第 44 項之宿主細胞，其中該哺乳動物宿主細胞為 CHO 細胞。
46. 根據第 43 項之宿主細胞，其中該原核宿主細胞為細菌細胞，較佳為大腸桿菌細胞。
47. 一種根據第 1 至 39 項之任一項之多肽之製法，該製法包括培養如第 42 至 46 項之宿主細胞及單離該多肽之步驟。
48. 一種醫藥組成物，其包含根據第 1 至 39 項之任一項之融合多肽。

49. 根據第 48 項之醫藥組成物或根據第 1 至 39 項之任一項之融合多肽，係作為藥劑用。
50. 根據第 48 及 49 項之醫藥組成物或根據第 1 至 39 項之任一項之融合多肽，係作為藥劑用以治療心血管疾病、肺部疾病、纖維化病症或腎臟疾病。
51. 一種心血管疾病、肺部疾病、纖維化病症或腎臟疾病之治療法，該治療法包括投與有效治療劑量之根據第 48 及 49 項之醫藥組成物或根據第 1 至 39 項之任一項之融合多肽。
52. 根據第 50 及 51 項之治療法，其中該心血管疾病係冠心病、急性冠狀動脈症候群、心臟衰竭、與心肌梗塞。

【實施方式】

實例

實驗流程

鬆弛素變異體之建構：

利用化學基因合成法產生鬆弛素變異體之 cDNA 序列；將合成之基因次轉殖至哺乳動物表現載體 pCEP4 (Invitrogen，目錄編號 V044-50) 中。有關用於正確分泌所得蛋白質之訊息領導序列，係使用 LDL 受體相關蛋白質 (LRP，胺基酸組成 MLTPPLLLLLPLLSALVAA) 或 CD33 (胺基酸組成 MPLLLLLPLWAGALA) 之領導序列。根據廠商說明，使用限制酶 HindIII 與 BamHI，進行合成建構體之次轉殖。

鬆弛素變異體之表現：

就小規模表現(達 2 毫升培養容積)而言，係根據廠商說明，使用 Lipofectamine2000 轉染試劑(Invitrogen，目錄編號 11668-019)短暫轉染 HEK293 (ATCC，目錄編號 CRL-1573)細胞株。於 37°C，5%二氧化碳之潮濕培養箱中，使細胞於 D-Mem F12 (Gibco，#31330)、1%青黴素-鏈黴素(Gibco，#15140)與 10%胎牛血清(FCS，Gibco，#11058)中進行培養。

轉染 3 至 5 天後，使用穩定轉染之 CHO-CRE-GR7 細胞株測定轉染細胞有條件培養液之活性。

就大規模表現(10 毫升培養容積及更多)而言，則如 Tom et al., 2007 中所述，使建構體於哺乳動物細胞中短暫表現。簡言之，將表現質體轉染至 HEK293-6E 細胞中，並於費恩巴赫瓶(Fernbach-Flasks)或波浪袋(Wave-Bags)中培養。表現係於 F17 培養基(Invitrogen)中，37°C 下，進行 5 至 6 天。轉染後，補充 5 克/公升胰蛋白胨 TN1 (Organotechnie)、1%超低(Ultra-Low) IgG FCS (Invitrogen)與 0.5 mM 丙戊酸(Sigma)。

鬆弛素變異體之純化：

從哺乳動物細胞培養上清液純化鬆弛素 Fc-融合建構體。首先，離心以自細胞碎屑液中得到澄清上清液。利用蛋白 A [蛋白 A (MabSelect Sure，GE Healthcare)]親和層析法及隨後之粒徑排阻層析法(SEC)純化蛋白質；因此，將上清液施加於先前已於 pH 7.4 之 PBS (Sigma

/Aldrich)中平衡之蛋白 A 管柱中，以 10 倍管柱容積之 pH 7.4 PBS + 500 mM NaCl 移除污染物。以 50 mM 乙酸钠(pH 3.5) + 500 mM NaCl 溶洗出鬆弛素 Fc 融合建構體，然後於 Superdex 200 管柱之 PBS (pH 7.4)中，利用 SEC 進一步純化。

關於 c-Myc 標記蛋白或多肽之純化，係根據廠商說明，使用 c-Myc 標記蛋白溫和純化凝膠 (Biozol Diagnostic, Protein Mild Purification Gel, 目錄編號 3306)。

關於 His 標記蛋白或多肽之純化，係根據廠商說明，使用 Ni-NTA 離心層析管柱(Qiagen, Ni-NTA Spin Kit, 目錄編號 31314)。

表現鬆弛素變異體之定量：

關於分泌及純化重組鬆弛素變異體之定量，係根據廠商說明，使用市售可得之定量 ELISA (R&D Systems, Human Relaxin-2 Quantikine ELISA Kit, 目錄編號 DRL200)。

此外，若干建構體蛋白係使用 FC-ELISA 定量。就 Fc ELISA 而言，係於 4°C，每毫升 5 微克之濃度下，以抗-Fc 抗體(SigmaAldrich, 目錄編號 A2136)塗覆 96 槽微量滴定盤(Nunc, Maxi Sorp black, 目錄編號 460918)過夜。洗滌滴定盤一次，每槽使用 50 微升由 PBS 與 0.05% Tween 20 (SigmaAldrich, 目錄編號 63158)緩衝液組成之緩衝液。添加 30 微升封阻緩衝液(Candor Bioscience,

目錄編號 113500)，使滴定盤於 37°C 培養 1 小時。洗滌滴定盤 3 次，每槽使用 50 微升 PBS/0.05% Tween 20 緩衝液。添加試樣，使滴定盤於 37°C 培養 1 小時。若需要，則須使用上述封阻緩衝液稀釋試樣。培養後，洗滌滴定盤 3 次，每槽使用 50 微升 PBS/0.05% Tween 20 緩衝液。

欲檢測時，添加 30 微升已於 10%封阻緩衝液中以 1:10000 稀釋之抗-h-Fc-POD (SigmaAldrich，目錄編號 A0170)，於 37°C 培養 1 小時。培養後，洗滌滴定盤 3 次，每槽使用 50 微升 PBS/0.05% Tween 20 緩衝液。添加 30 微升 BM 藍色基質(Blue Substrate) POD (Roche Diagnostics，目錄編號 11484281001)，培養 5 分鐘後，添加 1 M 硫酸溶液以終止反應。使用 Tecan Infinite 500 讀取計(吸光模式，450nm 消光，690nm 發射)測量吸光。

測定 Myc 標記蛋白濃度時，係根據廠商說明，使用人類 c-Myc ELISA 套組(EIAab & USCNLIFE，Wuhan EIAab Science Co.,Ltd，目錄編號 E1290h)。

測定 His 標記蛋白濃度時，係根據廠商說明，使用 His-標記蛋白質 ELISA 套組(BIOCAT GmbH，目錄編號 AKR-130)。

測定 HA (血球凝集素)標記蛋白濃度時，係根據廠商說明，使用人類血球凝集素(HA) ELISA 套組(Hölzel Diagnostika，目錄編號 CSB-E09360h)。

活性測試：

以環狀 AMP 反應元件(CRE)螢光素酶報導基因建構體(Biomyx Technology, pHTS-CRE, 目錄編號 P2100)穩定地轉染 CHO K1 細胞(ATCC, 目錄編號 CCL-61), 產生 CHO-CRE-螢光素酶細胞株。

接著以轉殖 2271 個鹽基對長之 DNA 片段至哺乳動物表現載體 pcDNA3.1(-) (Invitrogen, 目錄編號 V79520) 之人類 LGR7/RXFP1 受體(登錄號碼 NM_021634.2)穩定地轉染此細胞株, 產生 CHO-CRE-LGR7 細胞株。於 D-Mem F12 (Gibco, #31330)、2 mM Glutamax (Gibco, #35050)、100 nM Pyruvat (Gibco, #11360-070)、20 mM Hepes (Gibco, #15630)、1%青黴素-鏈黴素(Gibco, #15140)與 10%胎牛血清(FCS, Gibco, #11058)中, 培養此細胞株。

欲激發時, 將培養基換成 OptiMem (Gibco, #11058) +含不同濃度重組表現之鬆弛素變異體蛋白(通常自 100 nM 濃度開始, 接著進行 1:2 稀釋)之 1% FCS。正對照組係使用市售可得之重組表現人類鬆弛素 2 (Genbank 登錄編號 NP_604390.1)(R&D Systems, 目錄編號 6586-RN-025)。接著, 於 37°C, 5%二氧化碳之潮濕培養箱中, 培養細胞 6 小時。6 小時後, 使用螢光素酶分析系統(Promega, # E1500)及使用 Tecan Infinite 500 讀取計(發冷光模式, 1000 毫秒積分時間, 測量時間 30 秒)測定細胞之螢光素酶活性。

應用電腦程式 Graph Pad Prism 第 5 版, 使用相對發

冷光單位測定不同分子之 EC50 值。

欲測試鬆弛素以及本發明融合多肽之替代活性時，使用具有內源表現 LGR7 受體之細胞株(例如 THP1，ATCC 目錄編號 TIB-202)或初代細胞[例如 Celprogen Inc.，Human Cardiomyocyte Cell Culture (人類心肌細胞培養物)，目錄編號 36044-15]，根據廠商說明培養彼等細胞。

檢測鬆弛素或鬆弛素變異體誘發之 cAMP 產生之方法為此項技藝中已知。例如，使用 cAMP ELISA (例如 IBL International GmbH，cAMP ELISA，目錄編號 CM 581001)，根據廠商說明進行此類測量。

檢測鬆弛素或鬆弛素變異體誘發之 PI3 激酶活化之方法為此項技藝中已知。例如，使用 PI3-激酶 HTRF 分析(例如 Millipore，PI3-Kinase HTRF Assay，目錄編號 33-016)，根據廠商說明進行此類測量。

聚乙二醇化

針對半胱胺酸殘基之聚乙二醇化，於聚乙二醇化之前，通常係以還原劑例如二硫蘇糖醇(DTT)處理融合多肽；接著利用任何習知方法(例如脫鹽法)移除還原劑。PEG 與半胱胺酸殘基之共軛結合通常於 pH 6-9 之適當緩衝液中，溫度 4°C 至 25°C 不等，進行多達 16 小時。

一般將理解，聚乙二醇化係經設計俾使產生有關連接之 PEG 分子數、此等分子之大小與形狀(例如彼等是否為直鏈或分支鏈)、及於融合多肽中之連接部位之最適

分子。欲使用聚合物之分子量，舉例而言，可根據欲達成之期望功效進行選擇。

免疫原性測試

免疫原性測試係使用計算蛋白質或胜肽對 MHCII 複合物之可能結合親和力之電腦程式 NetMHCIIpan (Center for Biological Sequence Analysis ; Department of Systems Biology ; Technical University of Denmark) 進行。所計算之結合親和力越高，誘發感興趣蛋白質或多肽之抗體之風險越大。

T 細胞抗原決定部位圖譜定位之體外測定係根據 Reijonen 與 Kwok 發表之實驗流程[Reijonen H., Kwok WW. (2003) Use of HLA class II tetramers in tracking antigen-specific T cells and mapping T-cell epitopes. Methods 29:282-288]進行。

單鏈鬆弛素變異體之建構

單鏈鬆弛素變異體最適連接子長度之決定

如上述，產生以不同連接子長度連接 A 與 B 鏈之單鏈鬆弛素變異體。如諸序列所述，就蛋白質表現之替代測定方案而言，於若干建構體中，係添加 Myc 標記(胺基酸序列 EQKLISEEDL)至有或無血球凝集素標記(胺基酸序列 YPYDVPDYA)之 A 鏈之 N 終端(N terminal end)，以及添加 6 個組胺酸標記(胺基酸序列 HHHHHH)至 B 鏈之 C 終端(C terminal end)。

實例 1：scR1

於 scR1 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為三個胺基酸長，係由具 GlyGlyGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端，及添加血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記至 B 鏈之 C 終端。

實例 2：scR2

於 scR2 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為五個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端，及添加血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記至 B 鏈之 C 終端。

實例 3：scR3

於 scR3 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為七個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端，及添加血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記至 B 鏈之 C 終端。

實例 4：scR4

於 scR4 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為九個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈

之 N 終端，及添加血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記至 B 鏈之 C 終端。

實例 5：scR5

於 scR5 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為十一個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端，及添加血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記至 B 鏈之 C 終端。

實例 6：scR6

於 scR6 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為十五個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端，及添加血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記至 B 鏈之 C 終端。

實例 7：scR7

於 scR7 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為六個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 8：scR8

於 scR8 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連

接子序列之組成為十二個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySer 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 9：scR9

於 scR9 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為十三個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 10：scR10

於 scR10 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為十四個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 11：scR11

於 scR11 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為十個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyCysGlyGlySerGly 序列之多肽構成。未聚乙二醇化融合多肽之活性測試係使用未純化之蛋白質。

為了增進此建構體之生物半衰期，乃遵循如上述之實驗流程，進行連接 A 鏈與 B 鏈之連接子內半胱胺酸之聚乙二醇化。根據如上述之實驗流程，測定聚乙二醇化變異體之活性。

實例 12：scR12

於 scR12 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為十個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyLysGlyGlySerGly 序列之多肽構成。未聚乙二醇化融合多肽之活性測試係使用未純化之蛋白質。

為了增進此建構體之生物半衰期，遵循如上述之實驗流程將連接 A 鏈與 B 鏈之連接子內之離胺酸聚乙二醇化可為一種選擇。根據如上述之實驗流程，測定聚乙二醇化變異體之活性。

實例 13：scR13

於 scR13 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈 C 終端與 B 鏈 N 終端之連接子序列之組成為九個胺基酸長，係由具 LysArgSerLeuSerArgLysLysArg 序列之多肽構成。活性測試係使用未純化之融合多肽。

實例 14：scR14

於 scR14 中，連接人類鬆弛素 3 (登錄編號 NP_543140.1) 之 A 鏈 C 終端與 B 鏈 N 終端之連接子序列之組成為九個胺基酸長，將由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。根據如

上述之實驗流程測定活性；活性測試係使用未純化之融合多肽。

實例 15：scR15

於 scR15 中，連接人類鬆弛素 3（登錄編號 NP_543140.1）之 A 鏈 C 終端與 B 鏈 N 終端之連接子序列之組成為九個胺基酸長，將由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 16：scR16

於 scR16 中，連接人類鬆弛素 2 之 B 鏈 C 端與 A 鏈 N 端之連接子序列之組成為九個胺基酸長，將由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 17：scR17

於 scR17 中，連接人類鬆弛素 3（登錄編號 NP_543140.1）之 A 鏈 C 端與人類鬆弛素 2（登錄編號 NP_604390.1）之 B 鏈 N 端之連接子序列之組成為九個胺基酸長，將由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 18：scR18

於 scR18 中，連接人類鬆弛素 2 (登錄編號 NP_604390.1)之 B 鏈 C 端與人類鬆弛素 3 (登錄編號 NP_543140.1)之 A 鏈 N 端之連接子序列之組成為九個胺基酸長，將由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 19：scR19

於 scR19 中，連接人類鬆弛素 2 (登錄編號 NP_604390.1)之 A 鏈 C 端與人類鬆弛素 3 (登錄編號 NP_543140.1)之 B 鏈 N 端之連接子序列之組成為九個胺基酸長，將由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 20：scR20

於 scR20 中，連接人類鬆弛素 3 (登錄編號 NP_543140.1)之 B 鏈 C 端與人類鬆弛素 2 (登錄編號 NP_604390.1)之 A 鏈 N 端之連接子序列之組成為九個胺基酸長，將由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

全部單鏈鬆弛素變異體之圖解表述示於圖 2。

表 1 摘述有關各種 scR 建構體之表現以及生物活性之結果。鑑於連接子為 3、5、及 15 個胺基酸長之單鏈鬆弛素變異體於上述分析中未顯示任何可檢測出之生物活性，出乎意外地，所測試之長度為 6、7、9、10、11、12、13、及 14 個胺基酸之連接子導致產生展現生物活性可與人類鬆弛素 2 相較之單鏈變異體。

連接 A 鏈 C 端及 B 鏈 N 端之連接子長度對生物活性分子之產生雖然相當重要，惟連接子之胺基酸組成可變；其實例為 scR11 至 scR13；從而，scR11 及 scR12 於連接子序列中具有額外胺基酸(scR11 連接子中之 C 及 scR12 連接子中之 K)，或建構體 scR13 之情形下，具有與前述連接子序列未顯示任何同源性之連接子序列。

單鏈鬆弛素變異體之產生不限於鬆弛素 2，建構體 scR14 與 15 為鬆弛素 3 之單鏈變異體。鬆弛素 2 與鬆弛素 3 間之整體序列同源性雖低，惟係胰島素超級家族成員之此二基因之基因體組織完全相同。如同鬆弛素 2，鬆弛素 3 係由典型之 B 鏈-C 鏈-A 鏈結構組成。與鬆弛素 2 相同地，從鬆弛素 3 前胜肽利用前激素轉化酶 I 與 II 切割出 C 鏈，B 及 A 鏈經由雙硫橋鍵連接，以此形成活性分子。scR14 與 scR15 建構體為鬆弛素 3 之單鏈變異體，具有與鬆弛素 2 和建構體 scR4 前例已示之連接 A 鏈 C 端與 B 鏈 N 端之相同連接子分子。scR14 與 scR15 展現可檢測出之生物活性。

scR16、scR17、scR18、scR19、與 scR20 為鬆弛素

3 之 A 鏈與鬆弛素 2 之 B 鏈間(反之亦然)之嵌合體。從而，就活化 LGR7 受體而言，必須分別強制使鬆弛素 2 及鬆弛素 3 之 B 鏈位於鬆弛素 3/鬆弛素 2 嵌合體之 C 端部位。

轉殖株	表現	EC ₅₀ (M)*
hRelaxin 2		2,60E-11
hRelaxin 3	可檢測出	2,30E-09
scR1	可檢測出	未檢測出
scR2	可檢測出	未檢測出
scR3	可檢測出	7,70E-11
scR4	可檢測出	3,40E-11
scR5	可檢測出	3,70E-11
scR6	可檢測出	未檢測出
scR7	可檢測出	5,30E-08
scR8	可檢測出	2,40E-08
scR9	可檢測出	1,10E-07
scR10	可檢測出	4,40E-08
scR11	可檢測出	2,50E-08
scR12	可檢測出	3,60E-08
scR13	可檢測出	具活性 (EC ₅₀ n.d.)
scR14	可檢測出	5,90E-10
scR15	可檢測出	6,20E-10
scR16	可檢測出	未檢測出
scR17	可檢測出	1,30E-08
scR18	可檢測出	未檢測出
scR19	可檢測出	具活性 (EC ₅₀ n.d.)
scR20	可檢測出	未檢測出

* 數值為三至五個獨立實驗之例示。

劑量效應曲線及比較 hRelaxin2、scR3、scR4、與

scR5 活性之相應 EC50 值示於圖 4a；關於 hRelaxin2、scR7、scR8、scR9、與 scR10 者示於圖 4b；關於 hRelaxin2、scR11 與 scR12 者示於圖 4c；關於 hRelaxin2、hRelaxin3、scR14 與 scR15 者示於圖 4d；及關於 hRelaxin3 與 scR17 者示於圖 4e。

結論：結果顯示，連接子長度大於 5 個胺基酸及小於 15 個胺基酸為單鏈鬆弛素變異體之生物活性所必須；其中 A 鏈之 C 端係經由此等連接子連接於 B 鏈之 N 端。再者，本發明單鏈鬆弛素之產生不局限於鬆弛素 2。

鬆弛素 2 與其相應受體 LGR7 之結合為二步驟過程。於第一步驟中，人類鬆弛素 2 之 A 鏈結合於受體之 N 端胞外功能區。於第二步驟中，此結合之胞外功能區進行構形變化，鬆弛素 B 鏈與 LGR7 跨膜功能區間之二次交互作用傳介受體之訊息傳遞。此第二步驟對於配體-受體複合物之活化最為相關。因此，由於變異體 scR17 含人類鬆弛素 3 而非人類鬆弛素 2 之 A 鏈之事實，導致產生活性減少之建構體。於含人類鬆弛素 3 之 B 鏈而非人類鬆弛素 2 之 B 鏈之變異體 scR19 中，觀察到活性之進一步減少。與胞外功能區之結合經由人類鬆弛素 2 之 A 鏈發生，惟就活化 LGR7 而言，經由鬆弛素 3 之 B 鏈為次佳。鬆弛素 3 之相應受體為 LGR8。因此，很可能，使用 scR19 作為配體及 LGR8 作為相應受體時，訊息強度高得多；此亦為調節本發明融合多肽活性之方法。

scR13 未純化為活性降低之一種解釋，因為試樣中

之可能雜質導致濃度之不正確測定，或對細胞系螢光素酶分析之準確性可能具負面影響。

總之，此顯示有用之連接子序列不局限於富含甘胺酸/絲胺酸之序列，因為其他連接子序列(於本發明長度內)亦能導致完整活性之單鏈鬆弛素。

具增進之生物半衰期之單鏈鬆弛素融合蛋白之建構

為了增進單鏈鬆弛素變異體之生物半衰期，乃設計將免疫球蛋白分子之 Fc 部分添加於單鏈鬆弛素變異體 N 端或 C 終端之建構體。

從而，使單鏈鬆弛素變異體直接融合於免疫球蛋白之 Fc 部分，或利用不同長度及胺基酸組成之多肽連接。

增進多肽生物半衰期之另一選擇為以如轉鐵蛋白(登錄編號 P02787)或白蛋白(登錄編號 P02768)之多肽融合[SR Schmid (2009)]。

聚乙二醇化為增進多肽生物半衰期常見使用之方法；以此方式添加聚乙二醇聚合物鏈，使其共價連接於多肽。從而，使 PEG 之反應性衍生物與目標多肽一起培育。與 PEG 反應之較佳胺基酸為半胱胺酸與離胺酸。

Pasut and Veronese (2009))

鬆弛素融合蛋白-鬆弛素-Fc 之產生

欲增進生物半衰期，乃利用化學基因合成法，使人類 IgG1 之 Fc 部分與人類鬆弛素 2 結合。使人類鬆弛素 2 之羧基端部分(根據其基因體組織排列如下：B 鏈- C 鏈- A 鏈)融合於人類 IgG1 Fc 部分之 N 終端，從而使融

合蛋白之此二部分利用由具有編碼凝血因子 Xa 切割位置之 IleGluGlyArgMetAsp 序列之多肽構成之 6 個胺基酸長之連接子序列連接。然而，利用 CHO-CRE-LGR7 細胞株測定結果，鬆弛素 Fc 顯示無活性。

實例 16：scR-Fc 1

於 scR-Fc 1 中，連接 scR 4 之 C 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 6 個胺基酸長，係由具有編碼凝血因子 Xa 切割位置之 IleGluGlyArgMetAsp 序列之多肽構成。此多肽與 Fc 部分取代 scR 4 中之血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記。就蛋白質表現之替代測定方案而言，係添加 Myc 標記至 A 鏈之 N 終端。

實例 17：scR-Fc 2

於 scR-Fc 2 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 4 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerPro 序列之多肽構成。與 scR-Fc 1 對照下，此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。

實例 18：scR-Fc 3

於 scR-Fc 3 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 7 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerGlyGlySerPro 序列之多肽構成。與 scR-Fc 1 對照下，此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。

實例 19：scR-Fc 4

於 scR-Fc 4 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 10 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro 序列之多肽構成。與 scR-Fc 1 對照下，此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。

實例 20：scR-Fc 5

於 scR-Fc 5 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 N 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 C 終端之連接子序列之組成為 4 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerPro 序列之多肽構成。該 Fc 部分取代 A 鏈 N 終端之 Myc 標記。此建構體之 C 終端不具血球凝集素標記及/或 6 個組胺酸標記。

實例 21：scR-Fc 6

於 scR-Fc 6 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 N 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 C 終端之連接子序列之組成為 7 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerGlyGlySerPro 序列之多肽構成。該 Fc 部分取代 A 鏈 N 終端之 Myc 標記。此建構體之 C 終端不具血球凝集素標記及/或 6 個組胺酸標記。

實例 22：scR-Fc 7

於 scR-Fc 7 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 N 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 C 終端之連接子序列之組成為 10 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro 序列之多肽構成。該 Fc 部分取代 A 鏈 N 終端之 Myc 標記。此建構體之 C 終端不具血球凝集素標記及/或 6 個組

胺酸標記。

實例 23：scR-Fc 8

於 scR-Fc 8 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與大鼠 IgG2b Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 4 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerPro 序列之多肽構成。此外，6 個組胺酸標記添加於 Fc 部分之 C 終端。與 scR4 對照下，此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。該大鼠 IgG2b Fc 部分取代血球凝集素標記及 6 個組胺酸標記。

實例 24：scR-Fc 9

於 scR-Fc 9 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與大鼠 IgG2b Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 7 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerGlyGlySerPro 序列之多肽構成。此外，6 個組胺酸標記添加於 Fc 部分之 C 終端。與 scR4 對照下，此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。該大鼠 IgG2b Fc 部分取代血球凝集素標記及 6 個組胺酸標記。

實例 25：scR-Fc 10

於 scR-Fc 10 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與大鼠 IgG2b Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 10 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro 序列之多肽構成。此外，6 個組胺酸標記添加於 Fc 部分之 C 終端。與 scR4 對照下，此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。該大鼠 IgG2b Fc 部分取代血球凝集素標

記及 6 個組胺酸標記。

實例 26：scR-Fc 11

於 scR-Fc 11 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 N 終端與大鼠 IgG2b Fc 部分之 C 終端之連接子序列之組成為 4 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerPro 序列之多肽構成。此外，6 個組胺酸標記添加於 Fc 部分之 N 終端。該大鼠 IgG2b Fc 部分取代 Myc 標記。同時，此建構體之 C 終端不具血球凝集素標記及/或 6 個組胺酸標記。

實例 27：scR-Fc 12

於 scR-Fc 11 中，連接單鏈鬆弛素 scR1 之 N 終端與大鼠 IgG2b Fc 部分之 C 終端之連接子序列之組成為 7 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerGlyGlySerPro 序列之多肽構成。此外，6 個組胺酸標記添加於 Fc 部分之 N 終端。該大鼠 IgG2b Fc 部分取代 Myc 標記。同時，此建構體之 C 終端不具血球凝集素標記及/或 6 個組胺酸標記。

實例 28：scR-Fc 13

於 scR-Fc 11 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 N 終端與大鼠 IgG2b Fc 部分之 C 終端之連接子序列之組成為 10 個胺基酸長，係由具 GlyGlySerGlyGlySerGlyGlySerPro 序列之多肽構成。此外，6 個組胺酸標記添加於 Fc 部分之 N 終端。該大鼠 IgG2b Fc 部分取代 Myc 標記。同時，此建構體之 C 終端不具血球凝集素標記及/或 6 個組胺酸標記。

實例 29：scR-Fc 14

為了分析連接單鏈鬆弛素變異體與 Fc 部分之連接子序列之影響，乃於 scR-Fc 14 中，使序列 scR4 之 C 終端直接融合於人類 IgG1 之 Fc 部分。此 Fc 部分取代 scR4 中之血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記。此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。

實例 30：scR-Fc 15

於 scR-Fc 15 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 6 個胺基酸長，係由具 GlySerGlySerGlySer 序列之多肽構成。該人類 IgG1 Fc 部分取代血球凝集素標記與 6 個組胺酸標記。此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。

實例 31：scR-Fc 16

scR-Fc 16 係設計用以分析 Fc 部分內雙硫橋鍵對蛋白質表現與融合蛋白活性之影響；為此，以丙胺酸置換 scR-Fc 15 中人類 IgG1 Fc 部分內位置 86 之半胱胺酸殘基。

實例 32：scR-Fc 17

於 scR-Fc 17 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與大鼠 IgG2b Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 6 個胺基酸長，係由具 GlySerGlySerGlySer 序列之多肽構成。該大鼠 IgG2b Fc 部分取代血球凝集素標記及 6 個組胺酸標記。此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。

實例 33：scR-Fc 18

於 scR-Fc 18 中，連接單鏈鬆弛素 scR4 之 C 終端與

人類 IgG1 Fc 部分之 N 終端之連接子序列之組成為 21 個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGlyThrLysValThrValSerSerGluSerLysTyrGly 序列之多肽構成。該人類 IgG1 Fc 部分取代血球凝集素標記及 6 個組胺酸標記。此建構體 A 鏈之 N 終端不具 Myc 標記。

實例 34：scR-Var1

於 scR-Var1 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為 9 個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。此外，6 個胺基酸長，及具 GlyGlySerGlyCysGly 序列之多肽添加於 B 鏈之 C 終端。未聚乙二醇化融合多肽之活性測試係使用未純化之蛋白質。

為了增進此建構體之生物半衰期，乃遵循如上述之實驗流程，進行融合於 B 鏈 C 終端之延伸多肽內半胱胺酸之聚乙二醇化。根據如上述之實驗流程，測定聚乙二醇化變異體之活性。

實例 35：scR-Var2

於 scR-Var2 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈與 B 鏈之連接子序列之組成為 9 個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。此外，6 個胺基酸長，及具 GlyCysGlySerGlyGly 序列之多肽添加於 A 鏈之 N 終端。未聚乙二醇化融合多肽之活性測試係使用未純化之蛋白質。

為了增進此建構體之生物半衰期，乃遵循如上述之實驗流程，進行融合於 A 鏈 N 終端之延伸多肽內半胱胺酸之聚乙二醇化。根據如上述之實驗流程，測定聚乙二醇化變異體之活性。

實例 36：scR-Var3

於 scR-Var3 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈 C 終端與 B 鏈 N 終端之連接子序列之組成為 9 個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。於 A 鏈之 N 終端，具有編碼凝血因子 Xa 切割位置之 IleGluGlyArgMetAsp 之多肽連接此變異體與人類轉鐵蛋白(登錄編號 NP_001054.1)之 C 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 37：scR-Var4

於 scR-Var4 中，使野生型鬆弛素 2 (基因體組織)融合於轉鐵蛋白。為此，於 B 鏈之 N 終端，為連接此變異體與人類轉鐵蛋白(登錄編號 NP_001054.1)之 C 終端之具有編碼凝血因子 Xa 切割位置之 IleGluGlyArgMetAsp 之多肽。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 38：scR-Var5

於 scR-Var5 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈 C 終端與 B 鏈 N 終端之連接子序列之組成為 9 個胺基酸長，係由具 GlyGlyGlySerGlyGlyGlySerGly 序列之多肽構成。於 A 鏈之 N 終端，具有編碼凝血因子 Xa 切割位置之 IleGluGlyArgMetAsp 之多肽連接此變異體與人類白蛋白

蛋白質(登錄編號 NP_000468.1)之 C 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 39：scR-Var6

於 scR-Var6 中，B 鏈 N 終端之具有編碼凝血因子 Xa 切割位置之 IleGluGlyArgMetAsp 序列之多肽連接此變異體與人類白蛋白(登錄編號 NP_000468.1)之 C 終端。根據如上述之實驗流程測定活性。

實例 40：scR-Var7

於 scR-Var7 中，連接人類鬆弛素 2 之 A 鏈 C 終端與人類鬆弛素 2 之 B 鏈 N 終端之連接子序列之組成為 9 個胺基酸長，係由具 LysArgSerLeuSerArgLysLysArg 序列之多肽構成。

連接 B 鏈之 C 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 N 終端之連接子序列為 6 個胺基酸長，係由具有編碼凝血因子 Xa 切割位置之 IleGluGlyArgMetAsp 序列之多肽構成。

實例 41：scR-Var8

於 scR-Var8 中，連接 A 鏈之 C 終端與 B 鏈之 N 終端之連接子序列之組成為 9 個胺基酸長，係由具 LysArgSerLeuSerArgLysLysArg 序列之多肽構成。

連接 A 鏈之 N 終端與人類 IgG1 Fc 部分之 C 終端之連接子序列為 6 個胺基酸長，係由具有編碼凝血因子 Xa 切割位置之 IleGluGlyArgMetAsp 序列之多肽構成。

全部單鏈鬆弛素融合蛋白以及設計用於聚乙二醇化之變異體之圖解表述示於圖 3。

表 2 摘述各種 scR 融合蛋白建構體之表現以及生物活性之結果。

轉殖株	表現	EC ₅₀ (M)*
鬆弛素		3,50E-11
鬆弛素Fc	可檢測出	未檢測出
scR-Fc 1	可檢測出	1,30E-08
scR-Fc 2	可檢測出	3,30E-09
scR-Fc 3	可檢測出	2,40E-09
scR-Fc 4	可檢測出	3,10E-09
scR-Fc 5	可檢測出	1,30E-10
scR-Fc 6	可檢測出	4,20E-10
scR-Fc 7	可檢測出	7,40E-10
scR-Fc 8	可檢測出	7,20E-09
scR-Fc 9	可檢測出	9,90E-09
scR-Fc 10	可檢測出	4,80E-09
scR-Fc 11	可檢測出	1,20E-09
scR-Fc 12	可檢測出	9,50E-10
scR-Fc 13	可檢測出	8,90E-10
scR-Fc 14	可檢測出	3,90E-07
scR-Fc 15	可檢測出	3,40E-09
scR-Fc 16	可檢測出	2,50E-09
scR-Fc 17	可檢測出	2,50E-09
scR-Fc 18	可檢測出	具活性 (EC ₅₀ n.d.)
scR-Var1	可檢測出	1,10E-07
scR-Var2	可檢測出	4,20E-08
scR-Var3	可檢測出	1,00E-09
scR-Var4	可檢測出	1,30E-10
scR-Var5	可檢測出	5,50E-09
scR-Var6	可檢測出	8,30E-09
scR-Var7	可檢測出	具活性 (EC ₅₀ n.d.)
scR-Var8	可檢測出	具活性 (EC ₅₀ n.d.)

* 數值為三至五個獨立實驗之例示。

針對所列出之所有變異體，可使用人類鬆弛素-2

Quantikine ELISA 套組測定表現，及可使用 CHO-CRE-LGR7 細胞株測定活性。可為鑑戒地，scR-Fc 1、scR-Fc 5 至 scR-Fc 7、scR-Fc 11 至 scR-Fc 13、與 scR-Var3 至 scR-Var6 之劑量效應曲線分別示於圖 5、圖 6、圖 7、與圖 8。

以其 B 鏈-C 鏈-A 鏈定位融合於人類 IgG 分子 Fc 部分之人類野生型鬆弛素 2 分子未顯現任何可檢測出之活性。針對此分子不具活性之可能解釋為 C 鏈未完全處理。對照之下，含單鏈人類鬆弛素 2 之所有融合建構體可檢測出顯著活性。如上文所示，雖然未進行蛋白水解處理，該單鏈鬆弛素亦展現與人類野生型鬆弛素 2 可相較之活性。

就單鏈鬆弛素 2 融合建構體而言，Fc 部分之定位似對彼等分子之活性具有顯著影響。於 B 鏈 C 終端攜帶 Fc 部分之建構體(例如，scR-Fc 1 至 scR-Fc 4 及 scR-Fc 13 至 scR-Fc 18)比 A 鏈 N 終端攜帶 Fc 部分之建構體(例如，scR-Fc 5 至 scR-Fc 6 及 scR-Fc 11 至 scR-Fc 12)展現稍低之活性。如上述，A 鏈結合於相應受體 LGR7 之胞外功能區後，受體分子內之構形改變使 B 鏈與跨膜功能區細胞外環接觸；該第二步驟接著導致受體活化。因此，偶聯於 B 鏈之 Fc 部分能抑制 B 鏈之最佳結合，及因此抑制受體之完全活化。

Fc-單鏈鬆弛素之體內血漿穩定性分析

以 240 微克/公斤濃度之 scR-Fc 13 及 hRelaxin2 經

靜脈投與 8 週齡之威斯達(Wistar)公大鼠。於化合物投與 0 小時、1 小時、3 天、5 天、與 7 天後之時間點，採取血液試樣，使用市售可得之定量 ELISA (R&D Systems，人類鬆弛素-2 Quantikine ELISA 套組，目錄編號 DRL200) 測定 Fc-單鏈鬆弛素及未修飾 hRelaxin2 之濃度。

如圖 9 所示，施用 3 天後，未檢測出未修飾之 hRelaxin2，而甚至在靜脈投與 7 天後，仍可檢測出顯著濃度之 scR-Fc13，其濃度甚至高於以 CHO-LGR7 為基礎之活性測試所得到之 EC₅₀ 值。

從血漿單離之 Fc-單鏈鬆弛素活性之測定

為了測定靜脈投與 3、5、及 7 天後，scR-Fc 13 是否仍展現活性，乃使用 CHO-CRE-LGR7 細胞株測試血漿試樣。如圖 10 所示，針對所有三個試樣均可測定活性，及所有三個試樣之活性值與使用純化 scR-Fc 13 變異體所得到之 EC₅₀ 值相似。

離體灌流大鼠心臟

使用腹腔注射戊巴比妥(Narcoren，100 毫克/公斤)麻醉韋斯公大鼠(200-250 公克)。迅速取出心臟並連接至藍金道夫(Langendorff)灌流系統(FMI GmbH，Seeheim-Ober Beerbach，Germany)。用已以 95% O₂ - 5% CO₂ 平衡之克雷布斯-漢西萊特(Krebs-Henseleit)碳酸氫鹽緩衝液，以 10 毫升/分鐘之固定速率灌流心臟。灌流溶液含(毫莫耳/升)：NaCl 118；KCl 3；NaHCO₃ 22；KH₂PO₄ 1,2；MgSO₄ 1.2；CaCl₂ 1.8；葡萄糖 10；丙酮

酸鈉 2。以壓力轉換器顯示灌流系統中之灌流壓力。使用連接於經由左心室插入左心房之充水氣球之第二個壓力轉換器測量左心室壓力(LVP)。藉由調整氣球之體積，起初將舒張末期壓力設定於 8 毫米汞柱；心臟自然地跳動；將壓力轉換器之訊號放大、顯示及用於以個人電腦計算心臟頻率及+dp/dt。

如圖 11 所示，人類鬆弛素 2 (圖 11 a 至 d)以及 scR-Fc 13 (圖 11 e 至 h)之灌流導致心跳速率及冠狀動脈血流量之顯著增加，及左心室舒張壓與左心室壓力(+dp/dtmax)之減小。從而，hRelaxin2 比 scR-Fc 13 具 10 倍多之效力，反映出以 CHO-CRE-LGR7 細胞株測定之 sc 鬆弛素融合蛋白變異體及鬆弛素 2 之 EC50 值間之差異。

表 5：

建構體與相應之 SEQ ID NO 列表

建構體	種類	SEQ ID NO
ScR1	PRT	SEQ ID NO:1
ScR2	PRT	SEQ ID NO:2
scR3	PRT	SEQ ID NO:3
scR4	PRT	SEQ ID NO:4
scR5	PRT	SEQ ID NO:5
scR6	PRT	SEQ ID NO:6
scR7	PRT	SEQ ID NO:7
scR8	PRT	SEQ ID NO:8
scR9	PRT	SEQ ID NO:9

建構體	種類	SEQ ID NO
scR10	PRT	SEQ ID NO:10
scR11	PRT	SEQ ID NO:11
scR12	PRT	SEQ ID NO:12
scR13	PRT	SEQ ID NO:13
scR14	PRT	SEQ ID NO:14
scR15	PRT	SEQ ID NO:15
scR-Fc 1	PRT	SEQ ID NO:16
scR-Fc 2	PRT	SEQ ID NO:17
scR-Fc 3	PRT	SEQ ID NO:18
scR-Fc 4	PRT	SEQ ID NO:19
scR-Fc 5	PRT	SEQ ID NO:20
scR-Fc 6	PRT	SEQ ID NO:21
scR-Fc 7	PRT	SEQ ID NO:22
scR-Fc 8	PRT	SEQ ID NO:23
scR-Fc 9	PRT	SEQ ID NO:24
scR-Fc 10	PRT	SEQ ID NO:25
scR-Fc 11	PRT	SEQ ID NO:26
scR-Fc 12	PRT	SEQ ID NO:27
scR-Fc 13	PRT	SEQ ID NO:28
scR-Fc 14	PRT	SEQ ID NO:29
scR-Fc 15	PRT	SEQ ID NO:30
scR-Fc 16	PRT	SEQ ID NO:31
scR-Fc 17	PRT	SEQ ID NO:32
scR-Fc 18	PRT	SEQ ID NO:33

建構體	種類	SEQ ID NO
scR-Var1	PRT	SEQ ID NO:34
scR-Var2	PRT	SEQ ID NO:35
scR-Var3	PRT	SEQ ID NO:36
scR-Var4	PRT	SEQ ID NO:37
scR-Var5	PRT	SEQ ID NO:38
scR-Var6	PRT	SEQ ID NO:39
scR-Var7	PRT	SEQ ID NO:40
scR-Var8	PRT	SEQ ID NO:41
無標記 scR1	PRT	SEQ ID NO:42
無標記 scR2	PRT	SEQ ID NO:43
無標記 scR3	PRT	SEQ ID NO:44
無標記 scR4	PRT	SEQ ID NO:45
無標記 scR5	PRT	SEQ ID NO:46
無標記 scR6	PRT	SEQ ID NO:47
無標記 scR7	PRT	SEQ ID NO:48
無標記 scR8	PRT	SEQ ID NO:49
無標記 scR9	PRT	SEQ ID NO:50
無標記 scR10	PRT	SEQ ID NO:51
無標記 scR-Fc 1	PRT	SEQ ID NO:52
無標記 scR-Fc 8	PRT	SEQ ID NO:53
無標記 scR-Fc 9	PRT	SEQ ID NO:54
無標記 scR-Fc 10	PRT	SEQ ID NO:55
無標記 scR-Fc 11	PRT	SEQ ID NO:56
無標記 scR-Fc 12	PRT	SEQ ID NO:57

建構體	種類	SEQ ID NO
無標記 scR-Fc 13	PRT	SEQ ID NO:58
scR1	DNA	SEQ ID NO:59
scR2	DNA	SEQ ID NO:60
scR3	DNA	SEQ ID NO:61
scR4	DNA	SEQ ID NO:62
scR5	DNA	SEQ ID NO:63
scR6	DNA	SEQ ID NO:64
scR7	DNA	SEQ ID NO:65
scR8	DNA	SEQ ID NO:66
scR9	DNA	SEQ ID NO:67
scR10	DNA	SEQ ID NO:68
scR11	DNA	SEQ ID NO:69
scR12	DNA	SEQ ID NO:70
scR13	DNA	SEQ ID NO:71
scR14	DNA	SEQ ID NO:72
scR15	DNA	SEQ ID NO:73
scR-Fc 1	DNA	SEQ ID NO:74
scR-Fc 2	DNA	SEQ ID NO:75
scR-Fc 3	DNA	SEQ ID NO:76
scR-Fc 4	DNA	SEQ ID NO:77
scR-Fc 5	DNA	SEQ ID NO:78
scR-Fc 6	DNA	SEQ ID NO:79
scR-Fc 7	DNA	SEQ ID NO:80
scR-Fc 8	DNA	SEQ ID NO:81

建構體	種類	SEQ ID NO
scR-Fc 9	DNA	SEQ ID NO:82
scR-Fc 10	DNA	SEQ ID NO:83
scR-Fc 11	DNA	SEQ ID NO:84
scR-Fc 12	DNA	SEQ ID NO:85
scR-Fc 13	DNA	SEQ ID NO:86
scR-Fc 14	DNA	SEQ ID NO:87
scR-Fc 15	DNA	SEQ ID NO:88
scR-Fc 16	DNA	SEQ ID NO:89
scR-Fc 17	DNA	SEQ ID NO:90
scR-Fc 18	DNA	SEQ ID NO:91
scR-Var1	DNA	SEQ ID NO:92
scR-Var2	DNA	SEQ ID NO:93
scR-Var3	DNA	SEQ ID NO:94
scR-Var4	DNA	SEQ ID NO:95
scR-Var5	DNA	SEQ ID NO:96
scR-Var6	DNA	SEQ ID NO:97
scR-Var7	DNA	SEQ ID NO:98
scR-Var8	DNA	SEQ ID NO:99
無標記 scR1	DNA	SEQ ID NO:100
無標記 scR2	DNA	SEQ ID NO:101
無標記 scR3	DNA	SEQ ID NO:102
無標記 scR4	DNA	SEQ ID NO:103
無標記 scR5	DNA	SEQ ID NO:104
無標記 scR6	DNA	SEQ ID NO:105

建構體	種類	SEQ ID NO
無標記 scR7	DNA	SEQ ID NO:106
無標記 scR8	DNA	SEQ ID NO:107
無標記 scR9	DNA	SEQ ID NO:108
無標記 scR10	DNA	SEQ ID NO:109
無標記 scR-Fc 1	DNA	SEQ ID NO:110
無標記 scR-Fc 8	DNA	SEQ ID NO:111
無標記 scR-Fc 9	DNA	SEQ ID NO:112
無標記 scR-Fc 10	DNA	SEQ ID NO:113
無標記 scR-Fc 11	DNA	SEQ ID NO:114
無標記 scR-Fc 12	DNA	SEQ ID NO:115
無標記 scR-Fc 13	DNA	SEQ ID NO:116
RLN2 A 鏈	PRT	SEQ ID NO:117
RLN2 最小 A 鏈	PRT	SEQ ID NO:118
RLN2 B 鏈	PRT	SEQ ID NO:119
Fc IgG1 人類	PRT	SEQ ID NO:120
Fc IgG2b 大鼠	PRT	SEQ ID NO:121
轉鐵蛋白	PRT	SEQ ID NO:122
白蛋白	PRT	SEQ ID NO:123
RLN3 A 鏈	PRT	SEQ ID NO:124
RLN3 B 鏈	PRT	SEQ ID NO:125
RLN3 最小 A 鏈	PRT	SEQ ID NO:126
RLN2 A 鏈	DNA	SEQ ID NO:127
RLN2 最小 A 鏈	DNA	SEQ ID NO:128
RLN2 B 鏈	DNA	SEQ ID NO:129

建構體	種類	SEQ ID NO
Fc IgG1 人類	DNA	SEQ ID NO:130
Fc IgG2b 大鼠	DNA	SEQ ID NO:131
轉鐵蛋白	DNA	SEQ ID NO:132
白蛋白	DNA	SEQ ID NO:133
RLN3 A 鏈	DNA	SEQ ID NO:134
RLN3 B 鏈	DNA	SEQ ID NO:135
RLN3 最小 A 鏈	DNA	SEQ ID NO:136
連接子 1	PRT	SEQ ID NO:137
連接子 2	PRT	SEQ ID NO:138
連接子 3	PRT	SEQ ID NO:139
連接子 4	PRT	SEQ ID NO:140
連接子 5	PRT	SEQ ID NO:141
連接子 6	PRT	SEQ ID NO:142
連接子 7	PRT	SEQ ID NO:143
連接子 8	PRT	SEQ ID NO:144
連接子 9	PRT	SEQ ID NO:145
連接子 10	PRT	SEQ ID NO:146
延伸子 1	PRT	SEQ ID NO:147
延伸子 2	PRT	SEQ ID NO:148
延伸子 3	PRT	SEQ ID NO:149
延伸子 4	PRT	SEQ ID NO:150
延伸子 5	PRT	SEQ ID NO:151
scR16	PRT	SEQ ID NO:152
scR17	PRT	SEQ ID NO:153

建構體	種類	SEQ ID NO
scR18	PRT	SEQ ID NO:154
scR19	PRT	SEQ ID NO:155
scR20	PRT	SEQ ID NO:156
scR16	DNA	SEQ ID NO:157
scR17	DNA	SEQ ID NO:158
scR18	DNA	SEQ ID NO:159
scR19	DNA	SEQ ID NO:160
scR20	DNA	SEQ ID NO:161

進一步之引用文獻：

Hsu, S. Y. (2003). New insights into the evolution of the relaxin-LGR signaling system. *Trends Endocrinol Metab* 14:303–309 ;

Wilkinson, T. N., Speed, T. P., Tregear, G. W., Bathgate, R. A. (2005). Evolution of the relaxin-like peptide family. *BMC Evol Biol* 5:14 ;

Hudson P, Haley J, John M, Cronk M, Crawford R, Haralambidis J, Tregear G, Shine J, Niall H. (1983) Structure of a genomic clone encoding biologically active human relaxin. *Nature* 301: 628–631 ;

Toth, M., Taskinen, P., & Ruskoaho, H. (1996). Relaxin stimulates atrial natriuretic peptide secretion in perfused rat heart. *J Endocrinol* 150: 487–495 ;

Piedras-Renteria, E. S., Sherwood, O. D., and Best, P. M.

(1997). Effects of relaxin on rat atrial myocytes: I. Inhibition of I(to) via PKA-dependent phosphorylation. *Am J Physiol* 272:H1791–H1797 ;

Bartsch, O., Bartlick, B., and Ivell, R. (2001). Relaxin signaling links tyrosine phosphorylation to phosphodiesterase and adenylyl cyclase activity. *Mol Hum Reprod* 7:799–809 ;

Bartsch, O., Bartlick, B., and Ivell, R. (2004). Phosphodiesterase 4 inhibition synergizes with relaxin signaling to promote decidualization of human endometrial stromal cells. *J Clin Endocrinol Metab* 89:324–334 ;

Bani-Sacchi, T., Bigazzi, M., Bani, D., Mannaioni, P. F., and Masini, E. (1995) Relaxin-induced increased coronary flow through stimulation of nitric oxide production. *Br J Pharmacol* 116:1589–1594 ;

Dschietzig T, Bartsch C, Baumann G, Stangl K. (2006) Relaxin – a pleiotropic hormone and its emerging role for experimental and clinical therapeutics. *Pharmacol. Ther.* 112:38–56 ;

McGuane JT, Parry LJ. (2005) Relaxin and the extracellularmatrix: Molecular mechanisms of action and implications for cardiovascular disease. *Expert. Rev. Mol.Med.* 7:1–18 ;

Nistri, S., Chiappini, L., Sassoli, C. and Bani, D. (2003) Relaxin inhibits lipopolysaccharide-induced adhesion of neutrophils to coronary endothelial cells by a nitric

oxide-mediated mechanism. *FASEB J.* 17:2109–2111 ;

Perna AM, Masini E, Nistri S, Briganti V, Chiappini L, Stefano P, Bigazzi M, Pieroni C, Bani Sacchi T, Bani D. (2005) Novel drug development opportunity for relaxin in acute myocardial infarction: evidences from a swine model. *FASEB J.* 19:1525–1527 ;

Bani, D., Masini, E., Bello, M. G., Bigazzi, M. and Sacchi, T. B. (1998) Relaxin protects against myocardial injury caused by ischemia and reperfusion in rat heart. *Am. J. Pathol.* 152:1367–1376 ;

Zhang J, Qi YF, Geng B, Pan CS, Zhao J, Chen L, Yang J, Chang JK, Tang CS. (2005) Effect of relaxin on myocardial ischemia injury induced by isoproterenol. *Peptides* 26:1632–1639 ;

Teerlink JR, Metra M, Felker GM, Ponikowski P, Voors AA, Weatherley BD, Marmor A, Katz A, Grzybowski J, Unemori E, Teichman SL, Cotter G. (2009) Relaxin for the treatment of patients with acute heart failure (Pre-RELAX-AHF): a multicentre, randomised, placebo-controlled, parallel-group, dose-finding phase IIb study. *Lancet.* 373:1429-39 ;

Metra M, Teerlink JR, Felker GM, Greenberg BH, Filippatos G, Ponikowski P, Teichman SL, Unemori E, Voors AA, Weatherley BD, Cotter G. (2010) Dyspnoea and worsening heart failure in patients with acute heart failure: results from the Pre-RELAX-AHF study. *Eur J Heart Fail.* 12:1130-1139 ;

Cosen-Binker LI, Binker MG, Cosen R, Negri G, Tiscornia O. (2006) Relaxin prevents the development of severe acute pancreatitis. *World J. Gastroenterol.* 12:1558–1568 ;

Santora K, Rasa C, Visco D, Steinetz BG, Bagnell CA. (2007) Antiarthritic effects of relaxin, in combination with estrogen, in rat adjuvant induced arthritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 322:887–893 ;

Bennett RG. (2009) Relaxin and its role in the development and treatment of fibrosis. *Transl Res.* 154:1-6 ;

Barlos KK, Gatos D, Vasileiou Z, Barlos K. (2010) An optimized chemical synthesis of human relaxin-2. *J Pept Sci.* 16:200-211 ;

Park JI, Semyonov J, Yi W, Chang CL, Hsu SY (2008) Regulation of receptor signaling by relaxin A chain motifs: derivation of pan-specific and LGR7-specific human relaxin analogs. *J Biol Chem.* 283:32099-32109 ;

Shaw JA, Delday MI, Hart AW, Docherty HM, Maltin CA, Docherty K (2002) Secretion of bioactive human insulin following plasmid-mediated gene transfer to non-neuroendocrine cell lines, primary cultures and rat skeletal muscle in vivo. *J Endocrinol* 172:653–672 ;

Rajpal G, Liu M, Zhang Y, Arvan P, (2009) Single-Chain Insulins as Receptor Agonists. *Mol Endocrinol.* 23:679-88 ;

Dschietzig T, Teichmann S, Unemori E, Wood S, Boehmer

J, Richter C, Baumann G, Stangl K (2009) Intravenous Recombinant Human Relaxin in Compensated Heart Failure: A Safety, Tolerability, and Pharmacodynamic Trial. J Cardiac Fail 5:182-190 ;

WO2006053299 A2, Site-directed modification of FVIII, Bayer Healthcare LLC ;

Harris JM, Martin NE, Modi M. (2001) Pegylation: a novel process for modifying pharmacokinetics. Clin Pharmacokinet. 40:539-551 ;

Schmid SR, (2009) Fusion-proteins as biopharmaceuticals--applications and challenges. Curr Opin Drug Discov Devel.12:284-95 ;

Pasut and Veronese (2009) PEGylation for improving the effectiveness of therapeutic biomolecules. Drugs Today 45:687-695 ;

WO 97/26265

WO 99/03861

WO 00/06568

WO 00/06569

WO 02/42301

WO 03/095451

WO 01/19355

WO 01/19776

WO 01/19778

WO 01/19780

WO 02/070462

WO 02/070510。

【圖式簡單說明】

圖 1 野生型鬆弛素與單鏈鬆弛素以及其相應多肽功能區之基因組織示意圖。

圖 2 單鏈鬆弛素變異體示意圖。

圖 3 為聚乙二醇化設計之單鏈鬆弛素融合蛋白變異體以及單鏈鬆弛素變異體之功能區組織示意圖。

圖 4a-e 使用 CHO-CRE-LGR7 細胞株之 scR 3、scR 4、與 scR 5 (圖 4a)，scR 7、scR 8、scR9、與 scR10 (圖 4b)，scR11 與 scE12 (圖 4c)，人類鬆弛素 3、scR14、與 scR15 (圖 4d)及 scR17 (圖 4e)於功能性分析中之活性。對照組係使用 hRelaxin2 (R&D Systems，商品目錄編號 6586-RN-025)。數據以相對吸光值(Relative Light Units)表示，代表單鏈鬆弛素變異體及鬆弛素 2 誘發螢光素酶表現之活性。符號表示平均值，誤差槓表示 S.E.M。

圖 5 使用 CHO-CRE-LGR7 細胞株之 scR-Fc 1 於功能性分析中之活性。對照組係使用 hRelaxin2 (R&D Systems，商品目錄編號 6586-RN-025)。數據以相對吸光值表示，代表 scR-Fc 1 及 hRelaxin2 誘發螢光素酶表現之活性。符號表示平均值，誤差槓表示 S.E.M。

圖 6 使用 CHO-CRE-LGR7 細胞株之 scR-Fc 5、scR-Fc

6、與 scR-Fc 7 於功能性分析中之活性。對照組係使用 hRelaxin2 (R&D Systems, 商品目錄編號 6586-RN-025)。數據以相對吸光值表示,代表 scR-Fc 變異體及 hRelaxin2 誘發螢光素酶表現之活性。符號表示平均值,誤差槓表示 S.E.M.。

圖 7 使用 CHO-CRE-LGR7 細胞株之 scR-Fc 11、scR-Fc 12、與 scR-Fc 13 於功能性分析中之活性。對照組係使用 hRelaxin2 (R&D Systems, 商品目錄編號 6586-RN-025)。數據以相對吸光值表示,代表 scR-Fc 變異體及 hRelaxin2 誘發螢光素酶表現之活性。符號表示平均值,誤差槓表示 S.E.M.。

圖 8 使用 CHO-CRE-LGR7 細胞株之 scR-Var 3、scR-Var 4、scR-Var 5、與 scR-Var 6 於功能性分析中之活性。對照組係使用 hRelaxin2 (R&D Systems, 商品目錄編號 6586-RN-025)。數據以相對吸光值表示,代表 scR-Fc 變異體及 hRelaxin2 誘發螢光素酶表現之活性。符號表示平均值,誤差槓表示 S.E.M.。

圖 9 靜脈內投與 hRelaxin2 或 scR-Fc 13 之體內半衰期分析。8 週齡之威斯達公大鼠(每組 3 隻動物)分別單次施用人類鬆弛素 2 及 scR-Fc 13 (0.24 毫克/公斤)。施用後於指示時間點收集血液試樣,利用定量 ELISA 測定血清中各蛋白質含量。

圖 10 血液試樣中鬆弛素 2 及鬆弛素變異體之活性。

使用 CHO-CRE-LGR7 細胞株測定得自 scR-Fc 13 處理大鼠之血液試樣中之鬆弛素活性。使靜脈內投與 scR-Fc 13 後 3、5、及 7 天收集之血液試樣在 CHO-CRE-LGR7 細胞株中培育，並測定相對吸光值。使用 hRelaxin2 (R&D Systems, 商品目錄編號 6586-RN-025) 及純化之 scR-Fc 13 測定校準曲線。劑量效應曲線內之 EC50 以 X 標記。數據以相對吸光值表示，代表 scR-Fc 變異體及 hRelaxin2 誘發螢光素酶表現之活性。符號表示平均值，誤差槓表示 S.E.M.。

圖 11: 離體灌流大鼠心臟模式中，hRelaxin2 及 scR-Fc 13 對心跳速率、冠狀動脈血流量及收縮性之影響。

1 nM 濃度下，施用 hRelaxin2 導致心跳速率與冠狀動脈血流量增加，及展現負性肌力活性(圖 11 a – d)；以 scR-Fc 13 獲得可比較之功效，然而係於 10 倍高之濃度下。

序列表

<110> Bayer Intellectual Property GmbH
<120> 鬆弛素融合多肽及其用途
<130> BHC 11 1 007
<160> 161
<170> PatentIn version 3.5
<210> 1
<211> 80
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽
<400> 1

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15
Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30
Phe Cys Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly
35 40 45
Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp
50 55 60
Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala His His His His His His
65 70 75 80

<210> 2
<211> 82
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽
<400> 2

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15
Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30
Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu
35 40 45
Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser
50 55 60
Thr Trp Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala His His His His
65 70 75 80

His His

<210> 3
<211> 84
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 3
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile
35 40 45

Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly
50 55 60

Met Ser Thr Trp Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala His His
65 70 75 80

His His His His

<210> 4
<211> 86
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 4
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu
35 40 45

Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile
50 55 60

Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala
65 70 75 80

His His His His His His
85

<210> 5
<211> 88
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223>: 鬆弛素融合多肽

<400> 5

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15
Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30
Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Trp Met
35 40 45
Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile
50 55 60
Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp
65 70 75 80
Tyr Ala His His His His His His
85

<210> 6
<211> 92
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 6

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15
Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30
Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
35 40 45
Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
50 55 60
Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Tyr Pro Tyr
65 70 75 80
Asp Val Pro Asp Tyr Ala His His His His His His
85 90

<210> 7
<211> 68
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 7

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys
35 40 45

Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met
50 55 60

Ser Thr Trp Ser
65

<210> 8
<211> 74
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 8

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Trp
35 40 45

Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
50 55 60

Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
65 70

<210> 9
<211> 75
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 9

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser
35 40 45

Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala
50 55 60

Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
65 70 75

<210> 10
 <211> 76
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 10

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
 1 5 10 15

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
 20 25 30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 35 40 45

Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg
 50 55 60

Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 65 70 75

<210> 11
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 11

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Cys Gly Gly
 20 25 30

Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu
 35 40 45

Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 50 55 60

<210> 12
 <211> 62
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 12

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly
 20 25 30

Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu
35 40 45

Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
50 55 60

<210> 13
<211> 61
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 13

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Lys Arg Ser Leu Ser Arg Lys Lys
20 25 30

Arg Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
50 55 60

<210> 14
<211> 60
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 14

Asp Val Leu Ala Gly Leu Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser
1 5 10 15

Lys Ser Glu Ile Ser Ser Leu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Arg Ala Ala Pro Tyr Gly Val Arg Leu Cys Gly Arg Glu Phe Ile
35 40 45

Arg Ala Val Ile Phe Thr Cys Gly Gly Ser Arg Trp
50 55 60

<210> 15
<211> 70
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 15

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp Val Leu Ala Gly Leu
1 5 10 15

Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser Lys Ser Glu Ile Ser Ser
 20 25 30
 Leu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Arg Ala Ala Pro Tyr
 35 40 45
 Gly Val Arg Leu Cys Gly Arg Glu Phe Ile Arg Ala Val Ile Phe Thr
 50 55 60
 Cys Gly Gly Ser Arg Trp
 65 70
 <210> 16
 <211> 308
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 鬆弛素融合多肽
 <400> 16
 Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
 1 5 10 15
 Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
 20 25 30
 Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu
 35 40 45
 Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile
 50 55 60
 Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Ile Glu Gly Arg Met Asp Pro Lys Ala
 65 70 75 80
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 85 90 95
 Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 100 105 110
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 115 120 125
 His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 130 135 140
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 145 150 155 160
 Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 165 170 175
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 180 185 190
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

195

200

205

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 210 215 220

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 225 230 235 240

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 245 250 255

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 260 265 270

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 275 280 285

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 290 295 300

Ser Pro Gly Lys
 305

<210> 17
 <211> 292
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 17

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
 50 55 60

Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu
 65 70 75 80

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 85 90 95

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 100 105 110

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 115 120 125

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
 130 135 140

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
 145 150 155 160
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
 165 170 175
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 180 185 190
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val
 195 200 205
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 210 215 220
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 225 230 235 240
 Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 245 250 255
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 260 265 270
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 275 280 285
 Ser Pro Gly Lys
 290
 <210> 18
 <211> 295
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 鬆弛素融合多肽
 <400> 18
 Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
 50 55 60
 Gly Gly Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 65 70 75 80
 Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 85 90 95

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
100 105 110

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
115 120 125

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
130 135 140

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
145 150 155 160

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
165 170 175

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
180 185 190

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
195 200 205

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
210 215 220

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
225 230 235 240

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
245 250 255

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
260 265 270

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
275 280 285

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
290 295

<210> 19
<211> 298
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 19

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
50 55 60

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
65 70 75 80

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
85 90 95

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
100 105 110

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
115 120 125

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
130 135 140

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
145 150 155 160

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
165 170 175

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
180 185 190

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
210 215 220

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
225 230 235 240

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
245 250 255

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
260 265 270

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
275 280 285

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
290 295

- <210> 20
- <211> 292
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 鬆弛素融合多肽
- <400> 20

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

1	5	10	15
Gly	Pro	Ser	Val
20	Phe	Leu	Phe
Pro	Pro	Lys	Pro
25	Lys	Asp	Thr
30	Leu	Met	
Ile	Ser	Arg	Thr
35	Pro	Glu	Val
40	Thr	Cys	Val
45	Val	Val	Val
Asp	Val	Ser	His
Glu	Asp	Pro	Glu
50	Val	Lys	Phe
55	Asn	Trp	Tyr
60	Val	Asp	Gly
65	Val	Glu	Val
His	Asn	Ala	Lys
65	Thr	Lys	Pro
70	Arg	Glu	Glu
75	Tyr	Asn	Ser
80	Thr	Tyr	
Arg	Val	Val	Ser
85	Val	Leu	Thr
90	Val	Leu	His
95	Gln	Asp	Trp
Leu	Asn	Gly	
Lys	Glu	Tyr	Lys
100	Cys	Lys	Val
105	Ser	Asn	Lys
110	Ala	Leu	Pro
115	Ala	Pro	Ile
Glu	Lys	Thr	Ile
115	Ser	Lys	Ala
120	Lys	Gly	Gln
125	Pro	Arg	Glu
130	Pro	Gln	Val
Tyr	Thr	Leu	Pro
130	Pro	Ser	Arg
135	Asp	Glu	Leu
140	Thr	Lys	Asn
145	Gln	Val	Ser
Leu	Thr	Cys	Leu
145	Val	Lys	Gly
150	Phe	Tyr	Pro
155	Ser	Asp	Ile
160	Ala	Val	Glu
Trp	Glu	Ser	Asn
165	Gln	Pro	Glu
170	Asn	Tyr	Lys
175	Thr	Thr	Pro
180	Pro	Pro	
Val	Leu	Asp	Ser
180	Asp	Gly	Ser
185	Phe	Phe	Leu
190	Tyr	Ser	Lys
195	Leu	Thr	Val
Asp	Lys	Ser	Arg
195	Trp	Gln	Gln
200	Gly	Asn	Val
205	Phe	Ser	Cys
210	Ser	Val	Met
His	Glu	Ala	Leu
210	His	Asn	His
215	Tyr	Thr	Gln
220	Lys	Ser	Leu
225	Ser	Leu	Ser
230	Leu	Ser	Leu
235	Ala	Leu	Ala
240	Asn	Lys	
Cys	Cys	His	Val
245	Gly	Cys	Thr
250	Lys	Arg	Ser
255	Leu	Ala	Arg
260	Phe	Cys	Gly
Gly	Gly	Ser	Gly
260	Gly	Gly	Ser
265	Gly	Trp	Met
270	Glu	Glu	Val
275	Ile	Lys	
Leu	Cys	Gly	Arg
275	Glu	Leu	Val
280	Arg	Ala	Gln
285	Ile	Cys	Gly
290	Met		
Ser	Thr	Trp	Ser
290			

<210> 21
 <211> 295
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 21

```

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1      5      10      15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
      20      25      30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
      35      40      45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
      50      55      60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
65      70      75      80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
      85      90      95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
      100      105      110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
      115      120      125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
      130      135      140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
145      150      155      160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
      165      170      175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
      180      185      190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
      195      200      205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
      210      215      220

Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
225      230      235      240

Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
      245      250      255

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu

```

260

265

270

Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile
 275 280 285

Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 290 295

<210> 22
 <211> 298
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 22

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
 20 25 30

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
 35 40 45

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
 50 55 60

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
 65 70 75 80

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
 85 90 95

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
 100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
 115 120 125

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
 130 135 140

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
 145 150 155 160

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
 165 170 175

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
 180 185 190

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 195 200 205

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr
225 230 235 240

Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser
245 250 255

Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp
260 265 270

Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
275 280 285

Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
290 295

<210> 23
<211> 297
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 23

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
50 55 60

Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly
65 70 75 80

Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu
85 90 95

Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu
100 105 110

Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
115 120 125

His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe
130 135 140

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
145 150 155 160

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile
165 170 175

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys Pro Gln Val
 180 185 190
 Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser
 195 200 205
 Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu
 210 215 220
 Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
 225 230 235 240
 Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val
 245 250 255
 Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val
 260 265 270
 His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro
 275 280 285
 Pro Gly Lys His His His His His His
 290 295

<210> 24
 <211> 300
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 24

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
 50 55 60
 Gly Gly Ser Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu
 65 70 75 80
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 85 90 95
 Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp
 100 105 110
 Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn
 115 120 125

Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 130 135 140
 Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
 145 150 155 160
 Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro
 165 170 175
 Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys
 180 185 190
 Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln
 195 200 205
 Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile
 210 215 220
 Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn
 225 230 235 240
 Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys
 245 250 255
 Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys
 260 265 270
 Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile
 275 280 285
 Ser Arg Pro Pro Gly Lys His His His His His His
 290 295 300

<210> 25
 <211> 303
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 25

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
 50 55 60
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro
 65 70 75 80
 Val Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys

85 90 95

Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val
100 105 110

Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe
115 120 125

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
130 135 140

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
145 150 155 160

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
165 170 175

Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu
180 185 190

Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu
195 200 205

Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro
210 215 220

Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn
225 230 235 240

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met
245 250 255

Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro
260 265 270

Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu
275 280 285

Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys His His His His His His
290 295 300

<210> 26
<211> 298
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 26

His His His His His His Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro
1 5 10 15

Val Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
20 25 30

Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val
35 40 45

Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe
50 55 60

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
65 70 75 80

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
85 90 95

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
100 105 110

Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu
115 120 125

Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu
130 135 140

Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro
145 150 155 160

Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn
165 170 175

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met
180 185 190

Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro
195 200 205

Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu
210 215 220

Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr
225 230 235 240

Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser
245 250 255

Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp
260 265 270

Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
275 280 285

Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
290 295

- <210> 27
- <211> 301
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 鬆弛素融合多肽
- <400> 27

His His His His His His Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro
 1 5 10 15
 Val Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
 20 25 30
 Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val
 35 40 45
 Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe
 50 55 60
 Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
 65 70 75 80
 Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
 85 90 95
 Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
 100 105 110
 Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu
 115 120 125
 Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu
 130 135 140
 Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro
 145 150 155 160
 Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn
 165 170 175
 Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met
 180 185 190
 Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro
 195 200 205
 Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu
 210 215 220
 Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro
 225 230 235 240
 Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 245 250 255
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 260 265 270
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 275 280 285
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser .
 290 295 300

<210> 28
 <211> 304
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 28

```

His His His His His His Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro
1      5      10      15
Val Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
      20      25      30
Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val
      35      40      45
Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe
      50      55      60
Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
      65      70      75      80
Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
      85      90
Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
      100      105      110
Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu
      115      120      125
Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu
      130      135      140
Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro
      145      150      155      160
Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn
      165      170      175
Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met
      180      185      190
Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro
      195      200      205
Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu
      210      215      220
Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
      225      230      235      240
Gly Ser Pro Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val
      245      250      255

```

Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly
260 265 270

Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg
275 280 285

Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
290 295 300

<210> 29
<211> 288
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 29

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Asp Lys Thr
50 55 60

His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
65 70 75 80

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
85 90 95

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
100 105 110

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
115 120 125

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
130 135 140

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
145 150 155 160

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
165 170 175

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
180 185 190

Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
195 200 205

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 210 215 220
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 225 230 235 240
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 245 250 255
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 260 265 270
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 275 280 285
 <210> 30
 <211> 294
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 鬆弛素融合多肽
 <400> 30
 Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
 65 70 75 80
 Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
 85 90 95
 Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
 100 105 110
 Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
 115 120 125
 Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 130 135 140
 Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
 145 150 155 160
 Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
 165 170 175
 Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

180

185

190

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
195 200 205

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
210 215 220

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
225 230 235 240

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
245 250 255

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
260 265 270

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
275 280 285

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
290

<210> 31
<211> 294
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 31

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Ala Pro Pro Ala Pro Ala Pro Glu
65 70 75 80

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
85 90 95

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
100 105 110

Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
115 120 125

Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
130 135 140

Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
145 150 155 160

Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
165 170 175

Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
180 185 190

Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
195 200 205

Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
210 215 220

Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
225 230 235 240

Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
245 250 255

Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
260 265 270

Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
275 280 285

Ser Leu Ser Pro Gly Lys
290

<210> 32
<211> 294
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 32

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu
65 70 75 80

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
85 90 95

Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp
 100 105 110
 Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn
 115 120 125
 Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
 130 135 140
 Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp
 145 150 155 160
 Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro
 165 170 175
 Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys
 180 185 190
 Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln
 195 200 205
 Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile
 210 215 220
 Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn
 225 230 235 240
 Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys
 245 250 255
 Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys
 260 265 270
 Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile
 275 280 285
 Ser Arg Pro Pro Gly Lys
 290

<210> 33
 <211> 311
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 33

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Gly
50 55 60

Ser Gly Gly Gly Ser Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Glu Ser Lys
65 70 75 80

Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Ala Pro
85 90 95

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
100 105 110

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
115 120 125

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
130 135 140

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
145 150 155 160

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
165 170 175

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
180 185 190

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
195 200 205

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
210 215 220

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
225 230 235 240

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
245 250 255

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
260 265 270

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
275 280 285

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
290 295 300

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
305 310

- <210> 34
- <211> 67
- <212> PRT
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 34

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
 50 55 60

Gly Cys Gly
 65

<210> 35

<211> 67

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 35

Gly Cys Gly Ser Gly Gly Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys
 1 5 10 15

Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly
 20 25 30

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu
 35 40 45

Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser
 50 55 60

Thr Trp Ser
 65

<210> 36

<211> 746

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 36

Val Pro Asp Lys Thr Val Arg Trp Cys Ala Val Ser Glu His Glu Ala
 1 5 10 15

Thr Lys Cys Gln Ser Phe Arg Asp His Met Lys Ser Val Ile Pro Ser
 20 25 30

Asp Gly Pro Ser Val Ala Cys Val Lys Lys Ala Ser Tyr Leu Asp Cys
 35 40 45

Ile Arg Ala Ile Ala Ala Asn Glu Ala Asp Ala Val Thr Leu Asp Ala
 50 55 60
 Gly Leu Val Tyr Asp Ala Tyr Leu Ala Pro Asn Asn Leu Lys Pro Val
 65 70 75 80
 Val Ala Glu Phe Tyr Gly Ser Lys Glu Asp Pro Gln Thr Phe Tyr Tyr
 85 90 95
 Ala Val Ala Val Val Lys Lys Asp Ser Gly Phe Gln Met Asn Gln Leu
 100 105 110
 Arg Gly Lys Lys Ser Cys His Thr Gly Leu Gly Arg Ser Ala Gly Trp
 115 120 125
 Asn Ile Pro Ile Gly Leu Leu Tyr Cys Asp Leu Pro Glu Pro Arg Lys
 130 135 140
 Pro Leu Glu Lys Ala Val Ala Asn Phe Phe Ser Gly Ser Cys Ala Pro
 145 150 155 160
 Cys Ala Asp Gly Thr Asp Phe Pro Gln Leu Cys Gln Leu Cys Pro Gly
 165 170 175
 Cys Gly Cys Ser Thr Leu Asn Gln Tyr Phe Gly Tyr Ser Gly Ala Phe
 180 185 190
 Lys Cys Leu Lys Asp Gly Ala Gly Asp Val Ala Phe Val Lys His Ser
 195 200 205
 Thr Ile Phe Glu Asn Leu Ala Asn Lys Ala Asp Arg Asp Gln Tyr Glu
 210 215 220
 Leu Leu Cys Leu Asp Asn Thr Arg Lys Pro Val Asp Glu Tyr Lys Asp
 225 230 235 240
 Cys His Leu Ala Gln Val Pro Ser His Thr Val Val Ala Arg Ser Met
 245 250 255
 Gly Gly Lys Glu Asp Leu Ile Trp Glu Leu Leu Asn Gln Ala Gln Glu
 260 265 270
 His Phe Gly Lys Asp Lys Ser Lys Glu Phe Gln Leu Phe Ser Ser Pro
 275 280 285
 His Gly Lys Asp Leu Leu Phe Lys Asp Ser Ala His Gly Phe Leu Lys
 290 295 300
 Val Pro Pro Arg Met Asp Ala Lys Met Tyr Leu Gly Tyr Glu Tyr Val
 305 310 315 320
 Thr Ala Ile Arg Asn Leu Arg Glu Gly Thr Cys Pro Glu Ala Pro Thr
 325 330 335
 Asp Glu Cys Lys Pro Val Lys Trp Cys Ala Leu Ser His His Glu Arg
 340 345 350

Leu Lys Cys Asp Glu Trp Ser Val Asn Ser Val Gly Lys Ile Glu Cys
 355 360 365
 Val Ser Ala Glu Thr Thr Glu Asp Cys Ile Ala Lys Ile Met Asn Gly
 370 375 380
 Glu Ala Asp Ala Met Ser Leu Asp Gly Gly Phe Val Tyr Ile Ala Gly
 385 390 400
 Lys Cys Gly Leu Val Pro Val Leu Ala Glu Asn Tyr Asn Lys Ser Asp
 405 410 415
 Asn Cys Glu Asp Thr Pro Glu Ala Gly Tyr Phe Ala Val Ala Val Val
 420 425 430
 Lys Lys Ser Ala Ser Asp Leu Thr Trp Asp Asn Leu Lys Gly Lys Lys
 435 440 445
 Ser Cys His Thr Ala Val Gly Arg Thr Ala Gly Trp Asn Ile Pro Met
 450 455 460
 Gly Leu Leu Tyr Asn Lys Ile Asn His Cys Arg Phe Asp Glu Phe Phe
 465 470 475 480
 Ser Glu Gly Cys Ala Pro Gly Ser Lys Lys Asp Ser Ser Leu Cys Lys
 485 490 495
 Leu Cys Met Gly Ser Gly Leu Asn Leu Cys Glu Pro Asn Asn Lys Glu
 500 505 510
 Gly Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly Ala Phe Arg Cys Leu Val Glu Lys Gly
 515 520 525
 Asp Val Ala Phe Val Lys His Gln Thr Val Pro Gln Asn Thr Gly Gly
 530 535 540
 Lys Asn Pro Asp Pro Trp Ala Lys Asn Leu Asn Glu Lys Asp Tyr Glu
 545 550 555 560
 Leu Leu Cys Leu Asp Gly Thr Arg Lys Pro Val Glu Glu Tyr Ala Asn
 565 570 575
 Cys His Leu Ala Arg Ala Pro Asn His Ala Val Val Thr Arg Lys Asp
 580 585 590
 Lys Glu Ala Cys Val His Lys Ile Leu Arg Gln Gln Gln His Leu Phe
 595 600 605
 Gly Ser Asn Val Thr Asp Cys Ser Gly Asn Phe Cys Leu Phe Arg Ser
 610 615 620
 Glu Thr Lys Asp Leu Leu Phe Arg Asp Asp Thr Val Cys Leu Ala Lys
 625 630 635 640
 Leu His Asp Arg Asn Thr Tyr Glu Lys Tyr Leu Gly Glu Glu Tyr Val
 645 650 655

Lys Ala Val Gly Asn Leu Arg Lys Cys Ser Thr Ser Ser Leu Leu Glu
660 665 670

Ala Cys Thr Phe Arg Arg Pro Ile Glu Gly Arg Met Asp Gln Leu Tyr
675 680 685

Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser
690 695 700

Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp
705 710 715 720

Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
725 730 735

Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
740 745

<210> 37
<211> 846
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 37

Val Pro Asp Lys Thr Val Arg Trp Cys Ala Val Ser Glu His Glu Ala
1 5 10 15

Thr Lys Cys Gln Ser Phe Arg Asp His Met Lys Ser Val Ile Pro Ser
20 25 30

Asp Gly Pro Ser Val Ala Cys Val Lys Lys Ala Ser Tyr Leu Asp Cys
35 40 45

Ile Arg Ala Ile Ala Ala Asn Glu Ala Asp Ala Val Thr Leu Asp Ala
50 55 60

Gly Leu Val Tyr Asp Ala Tyr Leu Ala Pro Asn Asn Leu Lys Pro Val
65 70 75 80

Val Ala Glu Phe Tyr Gly Ser Lys Glu Asp Pro Gln Thr Phe Tyr Tyr
85 90 95

Ala Val Ala Val Val Lys Lys Asp Ser Gly Phe Gln Met Asn Gln Leu
100 105 110

Arg Gly Lys Lys Ser Cys His Thr Gly Leu Gly Arg Ser Ala Gly Trp
115 120 125

Asn Ile Pro Ile Gly Leu Leu Tyr Cys Asp Leu Pro Glu Pro Arg Lys
130 135 140

Pro Leu Glu Lys Ala Val Ala Asn Phe Phe Ser Gly Ser Cys Ala Pro
145 150 155 160

Cys Ala Asp Gly Thr Asp Phe Pro Gln Leu Cys Gln Leu Cys Pro Gly
 165 170 175
 Cys Gly Cys Ser Thr Leu Asn Gln Tyr Phe Gly Tyr Ser Gly Ala Phe
 180 185 190
 Lys Cys Leu Lys Asp Gly Ala Gly Asp Val Ala Phe Val Lys His Ser
 195 200 205
 Thr Ile Phe Glu Asn Leu Ala Asn Lys Ala Asp Arg Asp Gln Tyr Glu
 210 215 220
 Leu Leu Cys Leu Asp Asn Thr Arg Lys Pro Val Asp Glu Tyr Lys Asp
 225 230 235 240
 Cys His Leu Ala Gln Val Pro Ser His Thr Val Val Ala Arg Ser Met
 245 250 255
 Gly Gly Lys Glu Asp Leu Ile Trp Glu Leu Leu Asn Gln Ala Gln Glu
 260 265 270
 His Phe Gly Lys Asp Lys Ser Lys Glu Phe Gln Leu Phe Ser Ser Pro
 275 280 285
 His Gly Lys Asp Leu Leu Phe Lys Asp Ser Ala His Gly Phe Leu Lys
 290 295 300
 Val Pro Pro Arg Met Asp Ala Lys Met Tyr Leu Gly Tyr Glu Tyr Val
 305 310 315 320
 Thr Ala Ile Arg Asn Leu Arg Glu Gly Thr Cys Pro Glu Ala Pro Thr
 325 330 335
 Asp Glu Cys Lys Pro Val Lys Trp Cys Ala Leu Ser His His Glu Arg
 340 345 350
 Leu Lys Cys Asp Glu Trp Ser Val Asn Ser Val Gly Lys Ile Glu Cys
 355 360 365
 Val Ser Ala Glu Thr Thr Glu Asp Cys Ile Ala Lys Ile Met Asn Gly
 370 375 380
 Glu Ala Asp Ala Met Ser Leu Asp Gly Gly Phe Val Tyr Ile Ala Gly
 385 390 395 400
 Lys Cys Gly Leu Val Pro Val Leu Ala Glu Asn Tyr Asn Lys Ser Asp
 405 410 415
 Asn Cys Glu Asp Thr Pro Glu Ala Gly Tyr Phe Ala Val Ala Val Val
 420 425 430
 Lys Lys Ser Ala Ser Asp Leu Thr Trp Asp Asn Leu Lys Gly Lys Lys
 435 440 445
 Ser Cys His Thr Ala Val Gly Arg Thr Ala Gly Trp Asn Ile Pro Met
 450 455 460

Gly Leu Leu Tyr Asn Lys Ile Asn His Cys Arg Phe Asp Glu Phe Phe
 465 470 475 480
 Ser Glu Gly Cys Ala Pro Gly Ser Lys Lys Asp Ser Ser Leu Cys Lys
 485 490 495
 Leu Cys Met Gly Ser Gly Leu Asn Leu Cys Glu Pro Asn Asn Lys Glu
 500 505 510
 Gly Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly Ala Phe Arg Cys Leu Val Glu Lys Gly
 515 520 525
 Asp Val Ala Phe Val Lys His Gln Thr Val Pro Gln Asn Thr Gly Gly
 530 535 540
 Lys Asn Pro Asp Pro Trp Ala Lys Asn Leu Asn Glu Lys Asp Tyr Glu
 545 550 555 560
 Leu Leu Cys Leu Asp Gly Thr Arg Lys Pro Val Glu Glu Tyr Ala Asn
 565 570 575
 Cys His Leu Ala Arg Ala Pro Asn His Ala Val Val Thr Arg Lys Asp
 580 585 590
 Lys Glu Ala Cys Val His Lys Ile Leu Arg Gln Gln Gln His Leu Phe
 595 600 605
 Gly Ser Asn Val Thr Asp Cys Ser Gly Asn Phe Cys Leu Phe Arg Ser
 610 615 620
 Glu Thr Lys Asp Leu Leu Phe Arg Asp Asp Thr Val Cys Leu Ala Lys
 625 630 635 640
 Leu His Asp Arg Asn Thr Tyr Glu Lys Tyr Leu Gly Glu Glu Tyr Val
 645 650 655
 Lys Ala Val Gly Asn Leu Arg Lys Cys Ser Thr Ser Ser Leu Leu Glu
 660 665 670
 Ala Cys Thr Phe Arg Arg Pro Ile Glu Gly Arg Met Asp Asp Ser Trp
 675 680 685
 Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
 690 695 700
 Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Lys Arg Ser Leu Ser Gln
 705 710 715 720
 Glu Asp Ala Pro Gln Thr Pro Arg Pro Val Ala Glu Ile Val Pro Ser
 725 730 735
 Phe Ile Asn Lys Asp Thr Glu Thr Ile Asn Met Met Ser Glu Phe Val
 740 745 750
 Ala Asn Leu Pro Gln Glu Leu Lys Leu Thr Leu Ser Glu Met Gln Pro

755

760

765

Ala Leu Pro Gln Leu Gln Gln His Val Pro Val Leu Lys Asp Ser Ser
770 775 780

Leu Leu Phe Glu Glu Phe Lys Lys Leu Ile Arg Asn Arg Gln Ser Glu
785 790 795 800

Ala Ala Asp Ser Ser Pro Ser Glu Leu Lys Tyr Leu Gly Leu Asp Thr
805 810 815

His Ser Arg Lys Lys Arg Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys
820 825 830

Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys
835 840 845

<210> 38
<211> 652
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 38

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
165 170 175

Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415
 Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
 420 425 430
 Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
 435 440 445
 Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
 450 455 460
 Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser

201315739

465		470		475		480
Leu Val Asn Arg	Arg 485	Pro Cys Phe Ser	Ala 490	Leu Glu Val Asp	Glu 495	Thr
Tyr Val Pro	Lys 500	Glu Phe Asn Ala	Glu 505	Thr Phe Thr Phe	His 510	Ala Asp
Ile Cys	Thr 515	Leu Ser Glu Lys	Glu 520	Arg Gln Ile Lys	Lys 525	Gln Thr Ala
Leu	Val 530	Glu Leu Val Lys	His 535	Lys Pro Lys Ala	Thr 540	Lys Glu Gln Leu
Lys	Ala 545	Val Met Asp	Asp 550	Phe Ala Ala Phe	Val 555	Glu Lys Cys Cys Lys
Ala Asp Asp Lys	Glu 565	Thr Cys Phe Ala	Glu 570	Glu Gly Lys Lys	Leu 575	Val
Ala Ala Ser	Gln 580	Ala Ala Leu Gly	Leu 585	Ile Glu Gly Arg	Met 590	Asp Gln
Leu Tyr	Ser 595	Ala Leu Ala Asn	Lys 600	Cys Cys His Val	Gly 605	Cys Thr Lys
Arg	Ser 610	Leu Ala Arg Phe	Cys 615	Gly Gly Gly Ser	Gly 620	Gly Gly Ser Gly
Ser	Trp 625	Met Glu Glu	Val 630	Ile Lys Leu Cys	Gly 635	Arg Glu Leu Val Arg
Ala Gln Ile Ala	Ile 645	Cys Gly Met Ser	Thr 650	Trp Ser		

<210> 39
 <211> 752
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 39

Asp	Ala	His	Lys	Ser 5	Glu	Val	Ala	His	Arg 10	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly 15	Glu
Glu	Asn	Phe	Lys 20	Ala	Leu	Val	Leu	Ile 25	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr 30	Leu	Gln
Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val 40	Lys	Leu	Val	Asn	Glu 45	Val	Thr	Glu
Phe	Ala 50	Lys	Thr	Cys	Val	Ala 55	Asp	Glu	Ser	Ala	Glu 60	Asn	Cys	Asp	Lys
Ser 65	Leu	His	Thr	Leu	Phe 70	Gly	Asp	Lys	Leu	Cys 75	Thr	Val	Ala	Thr	Leu 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
 85 90 95
 Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
 100 105 110
 Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
 115 120 125
 Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
 130 135 140
 Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
 145 150 155 160
 Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro

370

375

380

Gln 385	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln 390	Asn	Cys	Glu	Leu	Phe 395	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu 400
Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn 405	Ala	Leu	Leu	Val	Arg 410	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val 415	Pro
Gln	Val	Ser	Thr 420	Pro	Thr	Leu	Val	Glu 425	Val	Ser	Arg	Asn	Leu 430	Gly	Lys
Val	Gly	Ser 435	Lys	Cys	Cys	Lys	His 440	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg 445	Met	Pro	Cys
Ala	Glu 450	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val 455	Val	Leu	Asn	Gln	Leu 460	Cys	Val	Leu	His
Glu 465	Lys	Thr	Pro	Val	Ser 470	Asp	Arg	Val	Thr	Lys 475	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser 480
Leu	Val	Asn	Arg	Arg 485	Pro	Cys	Phe	Ser	Ala 490	Leu	Glu	Val	Asp	Glu 495	Thr
Tyr	Val	Pro	Lys 500	Glu	Phe	Asn	Ala	Glu 505	Thr	Phe	Thr	Phe	His 510	Ala	Asp
Ile	Cys	Thr 515	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu 520	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys 525	Gln	Thr	Ala
Leu	Val 530	Glu	Leu	Val	Lys	His 535	Lys	Pro	Lys	Ala	Thr 540	Lys	Glu	Gln	Leu
Lys 545	Ala	Val	Met	Asp	Asp 550	Phe	Ala	Ala	Phe	Val 555	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys 560
Ala	Asp	Asp	Lys	Glu 565	Thr	Cys	Phe	Ala	Glu 570	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu 575	Val
Ala	Ala	Ser	Gln 580	Ala	Ala	Leu	Gly	Leu 585	Ile	Glu	Gly	Arg	Met 590	Asp	Asp
Ser	Trp	Met 595	Glu	Glu	Val	Ile	Lys 600	Leu	Cys	Gly	Arg	Glu 605	Leu	Val	Arg
Ala	Gln 610	Ile	Ala	Ile	Cys	Gly 615	Met	Ser	Thr	Trp	Ser 620	Lys	Arg	Ser	Leu
Ser 625	Gln	Glu	Asp	Ala	Pro 630	Gln	Thr	Pro	Arg	Pro 635	Val	Ala	Glu	Ile	Val 640
Pro	Ser	Phe	Ile	Asn 645	Lys	Asp	Thr	Glu	Thr 650	Ile	Asn	Met	Met	Ser 655	Glu
Phe	Val	Ala	Asn 660	Leu	Pro	Gln	Glu	Leu 665	Lys	Leu	Thr	Leu	Ser 670	Glu	Met

Gln Pro Ala Leu Pro Gln Leu Gln Gln His Val Pro Val Leu Lys Asp
675 680 685

Ser Ser Leu Leu Phe Glu Glu Phe Lys Lys Leu Ile Arg Asn Arg Gln
690 695 700

Ser Glu Ala Ala Asp Ser Ser Pro Ser Glu Leu Lys Tyr Leu Gly Leu
705 710 715 720

Asp Thr His Ser Arg Lys Lys Arg Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn
725 730 735

Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys
740 745 750

<210> 40
<211> 298
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽
<400> 40

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Lys Arg Ser Leu Ser Arg Lys Lys
20 25 30

Arg Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Ile Glu Gly
50 55 60

Arg Met Asp Pro Lys Ala Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
65 70 75 80

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
85 90 95

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
100 105 110

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
115 120 125

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
130 135 140

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
145 150 155 160

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
165 170 175

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly

180

185

190

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
 195 200 205

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 210 215 220

Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 225 230 235 240

Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 245 250 255

Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 260 265 270

Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 275 280 285

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 290 295

<210> 41
 <211> 298
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

<400> 41

Pro Lys Ala Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
 1 5 10 15

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 35 40 45

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
 65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
 100 105 110

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 115 120 125

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
 130 135 140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys Ile Glu Gly Arg Met Asp Gln Leu Tyr
225 230 235 240

Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser
245 250 255

Leu Ala Arg Phe Cys Lys Arg Ser Leu Ser Arg Lys Lys Arg Ser Trp
260 265 270

Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
275 280 285

Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
290 295

<210> 42
<211> 55
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 42

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu
20 25 30

Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile
35 40 45

Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
50 55

<210> 43
<211> 57
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 43

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met
 20 25 30

Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile
 35 40 45

Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 50 55

<210> 44

<211> 59

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 44

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30

Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala
 35 40 45

Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 50 55

<210> 45

<211> 61

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 45

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
 50 55 60

<210> 46

<211> 63

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽
<400> 46
Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu
35 40 45
Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
50 55 60

<210> 47
<211> 67
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽
<400> 47
Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu
35 40 45
Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser
50 55 60

Thr Trp Ser
65

<210> 48
<211> 58
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽
<400> 48
Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Trp
20 25 30
Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
35 40 45

Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser

50

55

<210> 49
<211> 64
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 49

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg
35 40 45
Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
50 55 60

<210> 50
<211> 65
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 50

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30
Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly
35 40 45
Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp
50 55 60

Ser
65

<210> 51
<211> 66
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 51

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15
Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys
35 40 45

Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr
50 55 60

Trp Ser
65

<210> 52
<211> 298
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 52

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Ile Glu Gly
50 55 60

Arg Met Asp Pro Lys Ala Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys
65 70 75 80

Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro
85 90 95

Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys
100 105 110

Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp
115 120 125

Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu
130 135 140

Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu
145 150 155 160

His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn
165 170 175

Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly
180 185 190

Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu
195 200 205

Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr
 210 215 220
 Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn
 225 230 235 240
 Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe
 245 250 255
 Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn
 260 265 270
 Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
 275 280 285
 Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 290 295
 <210> 53
 <211> 291
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 鬆弛素融合多肽
 <400> 53
 Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
 1 5 10 15
 Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 20 25 30
 Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
 35 40 45
 Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
 50 55 60
 Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly
 65 70 75 80
 Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu
 85 90 95
 Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu
 100 105 110
 Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
 115 120 125
 His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe
 130 135 140
 Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
 145 150 155 160

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile
165 170 175

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys Pro Gln Val
180 185 190

Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser
195 200 205

Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu
210 215 220

Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
225 230 235 240

Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val
245 250 255

Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val
260 265 270

His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro
275 280 285

Pro Gly Lys
290

<210> 54
<211> 294
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 54

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
20 25 30

Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val
35 40 45

Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Ser
50 55 60

Gly Gly Ser Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu
65 70 75 80

Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
85 90 95

Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp
100 105 110

Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn

115						120					125				
Val	Glu	Val	His	Thr	Ala	Gln	Thr	Gln	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn
	130					135					140				
Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Ala	Leu	Pro	Ile	Gln	His	Gln	Asp	Trp
145					150					155					160
Met	Ser	Gly	Lys	Glu	Phe	Lys	Cys	Lys	Val	Asn	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro
				165					170					175	
Ser	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Pro	Lys	Gly	Leu	Val	Arg	Lys
			180					185					190		
Pro	Gln	Val	Tyr	Val	Met	Gly	Pro	Pro	Thr	Glu	Gln	Leu	Thr	Glu	Gln
		195					200					205			
Thr	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Thr	Ser	Gly	Phe	Leu	Pro	Asn	Asp	Ile
	210					215					220				
Gly	Val	Glu	Trp	Thr	Ser	Asn	Gly	His	Ile	Glu	Lys	Asn	Tyr	Lys	Asn
225					230					235					240
Thr	Glu	Pro	Val	Met	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Met	Tyr	Ser	Lys
				245					250					255	
Leu	Asn	Val	Glu	Arg	Ser	Arg	Trp	Asp	Ser	Arg	Ala	Pro	Phe	Val	Cys
			260					265					270		
Ser	Val	Val	His	Glu	Gly	Leu	His	Asn	His	His	Val	Glu	Lys	Ser	Ile
		275					280					285			
Ser	Arg	Pro	Pro	Gly	Lys										
	290														

<210> 55
<211> 297
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 55

Gln	Leu	Tyr	Ser	Ala	Leu	Ala	Asn	Lys	Cys	Cys	His	Val	Gly	Cys	Thr
1				5					10					15	
Lys	Arg	Ser	Leu	Ala	Arg	Phe	Cys	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser
			20					25					30		
Gly	Ser	Trp	Met	Glu	Glu	Val	Ile	Lys	Leu	Cys	Gly	Arg	Glu	Leu	Val
		35					40					45			
Arg	Ala	Gln	Ile	Ala	Ile	Cys	Gly	Met	Ser	Thr	Trp	Ser	Gly	Gly	Ser
	50					55					60				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Ser	Pro	Thr	Cys	Pro	Thr	Cys	His	Lys	Cys	Pro
65					70					75					80

Val Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys
85 90 95

Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val
100 105 110

Val Val Asp Val Ser Glu Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe
115 120 125

Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu
130 135 140

Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His
145 150 155 160

Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys
165 170 175

Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu
180 185 190

Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu
195 200 205

Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro
210 215 220

Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn
225 230 235 240

Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met
245 250 255

Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro
260 265 270

Phe Val Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu
275 280 285

Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro Gly Lys
290 295

<210> 56
<211> 292
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 56

Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu
20 25 30

Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu
35 40 45

Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
50 55 60

His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
85 90 95

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu
145 150 155 160

Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
165 170 175

Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val
180 185 190

Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val
195 200 205

His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys
225 230 235 240

Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys Gly
245 250 255

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys
260 265 270

Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met
275 280 285

Ser Thr Trp Ser
290

<210> 57
<211> 295
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 57

Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15
 Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu
 20 25 30
 Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu
 35 40 45
 Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
 50 55 60
 His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe
 65 70 75 80
 Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
 85 90 95
 Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile
 100 105 110
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys Pro Gln Val
 115 120 125
 Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser
 130 135 140
 Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu
 145 150 155 160
 Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
 165 170 175
 Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val
 180 185 190
 Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val
 195 200 205
 His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro
 210 215 220
 Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
 225 230 235 240
 Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg
 245 250 255
 Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu
 260 265 270
 Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile
 275 280 285

Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
290 295

<210> 58
<211> 298
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 58

Pro Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu
20 25 30

Ile Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu
35 40 45

Glu Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val
50 55 60

His Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe
65 70 75 80

Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly
85 90 95

Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile
100 105 110

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys Pro Gln Val
115 120 125

Tyr Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser
130 135 140

Leu Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu
145 150 155 160

Trp Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro
165 170 175

Val Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val
180 185 190

Glu Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val
195 200 205

His Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro
210 215 220

Pro Gly Lys Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro Gln Leu Tyr
225 230 235 240

Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser
245 250 255
Leu Ala Arg Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp
260 265 270
Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln
275 280 285
Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
290 295

<210> 59
<211> 240
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 59
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagctggatg 120
gaagaagtga ttaaaactgtg cggccgcgaa ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc 180
atgagcacct ggagctatcc gtatgatgtg ccggattatg cgcatcatca tcatcatcat 240

<210> 60
<211> 246
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 60
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcagc 120
tgcatggaag aagtgattaa actgtgcggc cgcgaaactgg tgcgcgcgca gattgcgatt 180
tgcggcgatga gcacctggag ctatccgtat gatgtgccgg attatgcgca tcatcatcat 240
catcat
246

<210> 61
<211> 252
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 61
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120
ggcagctgga tggaagaagt gattaaactg tgcggccgcg aactggtgcg cgcgcagatt 180
gcgatttgcg gcatgagcac ctggagctat ccgtatgatg tgccggatta tgcgcatcat 240
catcatcatc at 252

<210>	62	
<211>	258	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	松弛素融合多肽	
<400>	62	
gaacagaaac	tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgttg	gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggca	gctggatgga agaagtgatt aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg	180
cagattgcga	tttgcggcat gagcacctgg agctatccgt atgatgtgcc ggattatgcg	240
catcatcatc	atcatcat	258
<210>	63	
<211>	264	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	松弛素融合多肽	
<400>	63	
gaacagaaac	tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgttg	gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggcg	gcggcagctg gatggaagaa gtgattaaac tgtgcggccg cgaactggtg	180
cgcgcgcaga	ttgcgatttg cggcatgagc acctggagct atccgtatga tgtgccggat	240
tatgcgcatac	atcatcatca tcat	264
<210>	64	
<211>	276	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	松弛素融合多肽	
<400>	64	
gaacagaaac	tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgttg	gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggcg	gcggcagcgg cggcggcagc tggatggaag aagtgattaa actgtgcggc	180
cgcgaactgg	tgcgcgcgca gattgcgatt tgcggcatga gcacctggag ctatccgtat	240
gatgtgccgg	attatgcgca tcatcatcat catcat	276
<210>	65	
<211>	204	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	松弛素融合多肽	
<400>	65	
gaacagaaac	tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgttg	gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
agctggatgg	aagaagtgat taaactgtgc ggccgcgaac tggcgcgcgc gcagattgcg	180

atttgcgga tgagcacctg gagc	204
<210> 66	
<211> 222	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 鬆弛素融合多肽	
<400> 66	
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggcg gcggcagcag ctggatggaa gaagtgatta aactgtgcgg ccgcgaactg	180
gtgcgcgcgc agattgcgat ttgcggcatg agcacctgga gc	222
<210> 67	
<211> 225	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 鬆弛素融合多肽	
<400> 67	
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggcg gcggcagcgg cagctggatg gaagaagtga ttaaactgtg cggccgcgaa	180
ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc atgagcacct ggagc	225
<210> 68	
<211> 228	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 鬆弛素融合多肽	
<400> 68	
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggcg gcggcagcgg cggcagcttg atggaagaag tgattaaact gtgcggccgc	180
gaactggtgc gcgcgcagat tgcgatttgc ggcatgagca cctggagc	228
<210> 69	
<211> 186	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 鬆弛素融合多肽	
<400> 69	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggctgc ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg	120
attaaactgt gcggccgcga actggtgcgc gcgcagattg cgatttgcgg catgagcacc	180
tgagc	
186	

<210>	70	
<211>	186	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	70	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60	
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcaaa ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg	120	
attaaactgt gcggccgcga actggtgcgc gcgcagattg cgatttgcgg catgagcacc	180	
tgagc		
186		
<210>	71	
<211>	183	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	71	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60	
gcgcgctttt gcaaacgcag cctgagccgc aaaaaacgca gctggatgga agaagtgatt	120	
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttitcgggcat gagcacctgg	180	
agc		
183		
<210>	72	
<211>	180	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	72	
gatgtgctgg cgggcctgag cagcagctgc tgcaaatggg gctgcagcaa aagcgaaatt	60	
agcagcctgt gcggcggcgg cagcggcggc ggacagcgcc gcgcggcgcc gtatggcgtg	120	
cgctgtgctg gccgcgaatt tattcgcgcg gtgattttta cctgcggcgg cagccgctgg	180	
<210>	73	
<211>	210	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	73	
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg gatgtgctgg cgggcctgag cagcagctgc	60	
tgcaaattggg gctgcagcaa aagcgaaatt agcagcctgt gcggcggcgg cagcggcggc	120	
ggcagcggcc gcgcggcgcc gtatggcgtg cgctgtgctg gccgcgaatt tattcgcgcg	180	
gtgattttta cctgcggcgg cagccgctgg	210	
<210>	74	
<211>	924	

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 74
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc 60
tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc 120
ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg 180
cagattgcga ttgcgggcat gagcacctgg agcattgaag gccgcatgga tccgaaagcg 240
tgcgataaaa cccataacctg cccgccgtgc ccggcgccgg aactgctggg cggcccgagc 300
gtgttttctgt ttccgccgaa accgaaagat accctgatga ttagccgcac cccggaagtg 360
acctgcgtgg tgggtggatgt gagccatgaa gatccggaag tgaaatttaa ctggtatgtg 420
gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc 480
tatcgcgtgg tgagcgtgct gaccgtgctg catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat 540
aaatgcaaag tgagcaacaa agcgcgtgccg gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg 600
aaaggccagc cgcgcgaacc gcagggtgat accctgccgc cgagccgcga tgaactgacc 660
aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctgggt aaaggctttt atccgagcga tattgcggtg 720
gaatgggaaa gcaacggcca gccggaaaac aactataaaa ccaccccgcc ggtgctggat 780
agcgatggca gcttttttct gtatagcaaa ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag 840
ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat gaagcgcctgc ataaccatta taccagaaa 900
agcctgagcc tgagcccggg caaa 924

<210> 75
<211> 876
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 75
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcgggcat gagcacctgg 180
agcggcggca gcccgataa aaccataacc tgcccgccgt gcccggcgcg ggaactgctg 240
ggcgccccga gcgtgtttct gtttccgccg aaaccgaaag ataccctgat gattagccgc 300
accccggaag tgacctgcgt ggtgggtggat gtgagccatg aagatccgga agtgaaattt 360
aactggatat tggatggcgt ggaagtgcac aacgcgaaaa ccaaaccgcg cgaagaacag 420
tataacagca cctatcgcgt ggtgagcgtg ctgaccgtgc tgcatcagga ttggctgaac 480
ggcaaagaat ataaatgcaa agtgagcaac aaagcgcctgc cggcgccgat tgaaaaaacc 540
attagcaaag cgaaaggcca gccgcgcgaa ccgcaggtgt ataccctgcc gccgagccgc 600
gatgaactga ccaaaaacca ggtgagcctg acctgcctgg tgaaaggctt ttatccgagc 660
gatattgcgg tggaatggga aagcaacggc cagccggaaa acaactataa aaccaccccg 720
ccggtgctgg atagcgatgg cagctttttt ctgtatagca aactgaccgt ggataaaagc 780

cgctggcagc agggcaacgt gtttagctgc agcgtgatgc atgaagcgct gcataaccat840

tataaccaga aaagcctgag cctgagcccg ggcaaa876

<210> 76

<211> 885

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 76

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggca gctggatgga agaagtgatt120

aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcgat gagcacctgg180

agcggcggca gcggcggcag cccggataaa acccatacct gcccgcctg cccggcgccg240

gaactgctgg gcggcccgag cgtgtttctg tttccgccga aaccgaaaga taccctgatg300

attagccgca ccccggaagt gacctgcgtg gtggtggatg tgagccatga agatccggaa360

gtgaaattta actggtatgt ggatggcgtg gaagtgcata acgcgaaaac caaacgcgc420

gaagaacagt ataacagcac ctatcgcgtg gtgagcgtgc tgaccgtgct gcatcaggat480

tggctgaacg gcaaagaata taaatgcaaa gtgagcaaca aagcgtgcc ggcgccgatt540

gaaaaaacca ttagcaaagc gaaaggccag ccgcgcgaac cgcaggtgta taccctgccg600

ccgagccgcg atgaactgac caaaaaccag gtgagcctga cctgcctggt gaaaggcttt660

tatccgagcg atattgcggt ggaatgggaa agcaacggcc agccggaaaa caactataaa720

accacccgcg cgggtgctgga tagcgatggc agcttttttc tgtatagcaa actgaccgtg780

gataaaagcc gctggcagca gggcaacgtg tttagctgca gcgtgatgca tgaagcgtg840

cataaccatt ataccagaa aagcctgagc ctgagcccg gcaaa885

<210> 77

<211> 894

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 77

cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg60

gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggca gctggatgga agaagtgatt120

aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcgat gagcacctgg180

agcggcggca gcggcggcag cggcggcagc ccggataaaa ccataacctg cccgccgtgc240

ccggcgccgg aactgctggg cggcccagc gtgtttctgt ttccgccgaa accgaaagat300

acctgatga ttagccgcac cccggaagtg acctgcgtgg tggatggatgt gagccatgaa360

gatccggaag tgaaatttaa ctggtatgtg gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc420

aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc tatcgcgtgg tgagcgtgct gaccgtgctg480

catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat aaatgcaaag tgagcaacaa agcgtgccg540

gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg aaaggccagc cgcgcgaaac gcaggtgtat600

acctgccgcg cgagccgcga tgaactgacc aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctggtg660

aaaggctttt atccgagcga tattgcggtg gaatgggaaa gcaacggcca gccggaaaaac 720
aactataaaa ccaccccgcc ggtgctggat agcgatggca gcttttttct gtatagcaaa 780
ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat 840
gaagcgctgc ataaccatta taccagaaa agcctgagcc tgagcccggg caaa 894

<210> 78
<211> 876
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 78
gataaaaccc atacctgccc gccgtgcccg gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg 60
tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc 120
tgctggtgg tggatgtgag ccatgaagat ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat 180
ggcgtggaag tgcataacgc gaaaaccaa cgcgcgaag aacagtataa cagcacctat 240
cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat caggattggc tgaacggcaa agaataaaa 300
tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaaa 360
ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc ctgccgccga gccgcgatga actgaccaa 420
aaccagggtga gcctgacctg cctggtgaaa ggctttttatc cgagcgatat tgcggtggaa 480
tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac tataaaacca ccccgccggt gctggatagc 540
gatggcagct tttttctgta tagcaaactg accgtggata aaagccgctg gcagcagggc 600
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa gcgctgcata accattatac ccagaaaagc 660
ctgagcctga gcccgggcaa aggcggcagc ccgcagctgt atagcgcgct ggccaacaaa 720
tgctgccatg tgggctgcac caaacgcagc ctggcgcgct tttgcggcgg cggcagcggc 780
ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg attaaactgt gcggccgcga actggtgcgc 840
gcgcagattg cgatttgcg catgagcacc tggagc 876

<210> 79
<211> 885
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 79
gataaaaccc atacctgccc gccgtgcccg gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg 60
tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc 120
tgctggtgg tggatgtgag ccatgaagat ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat 180
ggcgtggaag tgcataacgc gaaaaccaa cgcgcgaag aacagtataa cagcacctat 240
cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat caggattggc tgaacggcaa agaataaaa 300
tgcaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaaa 360
ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc ctgccgccga gccgcgatga actgaccaa 420
aaccagggtga gcctgacctg cctggtgaaa ggctttttatc cgagcgatat tgcggtggaa 480

tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac tataaaacca ccccgccggt gctggatagc	540
gatggcagct tttttctgta tagcaaaactg accgtggata aaagccgctg gcagcagggc	600
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa gcgctgcata accattatac ccagaaaagc	660
ctgagcctga gcccgggcaa aggcggcagc ggcggcagcc cgcagctgta tagcgcgctg	720
gcgaacaaat gctgccatgt gggctgcacc aaacgcagcc tggcgcgctt ttgcggcggc	780
ggcagcggcg gcggcagcgg cagctggatg gaagaagtga ttaaactgtg cggccgcgaa	840
ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc atgagcacct ggagc	885

<210> 80
<211> 894
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 80	
gataaaaccc atacctgccc gccgtgcccg gcgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg	60
tttctgtttc cgccgaaacc gaaagatacc ctgatgatta gccgcacccc ggaagtgacc	120
tgcgtggtgg tggatgtgag ccatgaagat ccggaagtga aatttaactg gtatgtggat	180
ggcgtggaag tgcataacgc gaaaaccaa cgcgcggaag aacagtataa cagcacctat	240
cgcgtggtga gcgtgctgac cgtgctgcat caggattggc tgaacggcaa agaataaaa	300
tgcaaaagtga gcaacaaagc gctgccggcg ccgattgaaa aaaccattag caaagcgaaa	360
ggccagccgc gcgaaccgca ggtgtatacc ctgccgccga gccgcgatga actgaccaa	420
aaccaggtga gcctgacctg cctggtgaaa ggcttttatc cgagcgatat tgcggtggaa	480
tgggaaagca acggccagcc ggaaaacaac tataaaacca ccccgccggt gctggatagc	540
gatggcagct tttttctgta tagcaaaactg accgtggata aaagccgctg gcagcagggc	600
aacgtgttta gctgcagcgt gatgcatgaa gcgctgcata accattatac ccagaaaagc	660
ctgagcctga gcccgggcaa aggcggcagc ggcggcagcg gcggcagccc gcagctgtat	720
agcgcgctgg cgaacaaatg ctgccatgtg ggctgcacca aacgcagcct ggcgcgcttt	780
tgcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc	840
ggccgcgaac tgggtgcgcg gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gaggc	894

<210> 81
<211> 891
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 81	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggagcggca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttitcggcag gagcacctgg	180
agcggcggca gcccgacctg cccgacctgc cataaatgcc cggtgccgga actgctgggc	240
ggcccagcgc tgtttatatt tccgccgaaa ccgaaagata ttctgctgat tagccagaac	300
gcgaaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agcgaagaag aaccggatgt gcagtttagc	360

```

tggtttgtga acaacgtgga agtgcatacc ggcgagaccc agccgcgcga agaacagtat 420
aacagcacct ttgcgctggt gagcgcgctg ccgattcagc atcaggattg gatgagcggc 480
aaagaattta aatgcaaagt gaacaacaaa ggcgtgccga gcccgattga aaaaaccatt 540
agcaaaccga aaggcctggt gcgcaaaccg cagggtgtatg tgatgggccc gccgaccgaa 600
cagctgaccg aacagaccgt gagcctgacc tgccctgacca gcggctttct gccgaacgat 660
attggcgtgg aatggaccag caacggccat attgaaaaaa actataaaaa caccgaaccg 720
gtgatggata gcgatggcag cttttttatg tatagcaaac tgaacgtgga acgcagccgc 780
tgggatagcc gcgcgccgtt tgtgtgcagc gtggtgcatg aaggcctgca taaccatcat 840
gtggaaaaaa gcattagccg cccgccgggc aaacatcatc atcatcatca t 891

```

<210> 82
<211> 900
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 82
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggccagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcgggcat gagcacctgg 180
agcggcggca gcggcggcag cccgacctgc ccgacctgcc ataaatgcc ggtgccggaa 240
ctgctgggcg gcccgagcgt gtttatTTTT cgcgcgaaac cgaaagatat tctgctgatt 300
agccagaacg cgaaagtgc ctgcgtgggt gtggatgtga gcgaagaaga accggatgtg 360
cagtttagct ggtttgtgaa caacgtggaa gtgcataccg cgcagaccca gccgcgcgaa 420
gaacagtata acagcacctt tcgcgtgggt agcgcgctgc cgattcagca tcaggattgg 480
atgagcggca aagaatttaa atgcaaagt aacaacaaag cgctgccgag cccgattgaa 540
aaaaccatta gcaaaccgaa aggcctgggt cgcaaaccgc aggtgtatgt gatgggcccg 600
ccgaccgaac agctgaccga acagaccgtg agcctgacct gcctgaccag cggctttctg 660
ccgaacgata ttggcgtgga atggaccagc aacggccata ttgaaaaaaa ctataaaaac 720
accgaaccgg tgatggatag cgatggcagc ttttttatgt atagcaaact gaacgtggaa 780
cgcagccgct gggatagccg gcgcgccgtt gtgtgcagcg tgggtgcatg aggcctgcat 840
aaccatcatg tggaaaaaag cattagccgc ccgccgggca aacatcatca tcatcatcat 900

```

<210> 83
<211> 909
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 83
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggccagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcgggcat gagcacctgg 180

```

agcggcggca gcggcggcag cggcggcagc ccgacctgcc cgacctgcca taaatgcccg 240
gtgccggaac tgctgggagg cccgagcgtg tttatitttc cgccgaaacc gaaagataatt 300
ctgctgatta gccagaacgc gaaagtgacc tgcgtggttg tggatgtgag cgaagaagaa 360
ccggatgtgc agtttagctg gtttgtgaac aacgtggaag tgcataccgc gcagaccag 420
ccgcgcgaag aacagtataa cagcaccttt cgcgtggtga gcgcgctgcc gattcagcat 480
caggattgga tgagcggcaa agaatttaaa tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc 540
ccgattgaaa aaaccattag caaaccgaaa ggccctggtgc gcaaaccgca ggtgtatgtg 600
atgggccccg cgaccgaaca gctgaccgaa cagaccgtga gcctgacctg ccagaccagc 660
ggctttctgc cgaacgatat tggcgtggaa tggaccagca acggccatat tgaaaaaac 720
tataaaaaa ccgaaccggt gatggatagc gatggcagct tttttatgta tagcaaaactg 780
aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc gcgccgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa 840
ggcctgcata accatcatgt ggaaaaaagc attagccgcc cgccgggcaa acatcatcat 900
catcatcat
909

<210> 84
<211> 894
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 84
catcatcatc atcatcatcc gacctgcccg acctgccata aatgcccggg gccggaactg 60
ctgggaggcc cgagcgtgtt tatttttccg ccgaaaccga aagatattct gctgattagc 120
cagaacgcga aagtgacctg cgtggttggt gatgtgagcg aagaagaacc ggatgtgcag 180
tttagctggt ttgtgaacaa cgtggaagtg cataccgcgc agaccagcc gcgcgaagaa 240
cagtataaca gcacctttcg cgtggtgagc gcgctgccga ttcagcatca ggattggatg 300
agcggcaaag aatttaaagt caaagtgaac aacaaagcgc tgccgagccc gattgaaaaa 360
accattagca aaccgaaagg cctggtgccc aaaccgcagg tgtatgtgat gggcccgccg 420
accgaacagc tgaccgaaca gaccgtgagc ctgacctgcc tgaccagcgg ctttctgccg 480
aacgatattg gcgtggaatg gaccagcaac ggccatattg aaaaaacta taaaaacacc 540
gaaccggtga tggatagcga tggcagcttt tttatgtata gcaaaactgaa cgtggaacgc 600
agccgctggg atagccgcgc gccgtttgtg tgcagcgtgg tgcataaagg cctgcataac 660
catcatgttg aaaaaagcat tagccgcccg ccgggcaaag gcggcagccc gcagctgtat 720
agcgcgctgg cgaacaaatg ctgccatgtg ggctgcacca aacgcagcct ggcgcgcttt 780
tgcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc 840
ggccgcgaac tgggtgcgcgc gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gagc 894

<210> 85
<211> 903
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 85
catcatcatc atcatcatcc gacctgcccg acctgccata aatgcccgggt gccggaactg 60
ctgggcgggcc cgagcgtgtt tatttttccg ccgaaaccga aagatattct gctgattagc 120
cagaacgcga aagtgacctg cgtgggtggtg gatgtgagcg aagaagaacc ggatgtgcag 180
tttagctgggt ttgtgaacaa cgtggaagtg cataccgcgc agaccagcc gcgcgaagaa 240
cagtataaca gcacctttcg cgtgggtgagc gcgctgccga ttcagcatca ggattggatg 300
agcggcaaag aatttaaagt caaagtgaac aacaaagcgc tgccgagccc gattgaaaaa 360
accattagca aaccgaaagg cctgggtgcgc aaaccgcagg tgtatgtgat gggcccgcgc 420
accgaacagc tgaccgaaca gaccgtgagc ctgacctgcc tgaccagcgg ctttctgccg 480
aacgatattg gcgtggaatg gaccagcaac ggccatattg aaaaaaacta taaaaacacc 540
gaaccgggtga tggatagcga tggcagcttt tttatgtata gcaaactgaa cgtggaacgc 600
agccgctggg atagccgcgc gccgtttgtg tgcagcgtgg tgcataagg cctgcataac 660
catcatgttg aaaaaagcat tagccgcccg ccgggcaaag gcggcagcgg cggcagcccg 720
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg 780
gcgcgctttt gcggcgggcg cagcggcggc ggagcggcga gctggatgga agaagtgatt 840
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 900
agc
903

<210> 86
<211> 912
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 86
catcatcatc atcatcatcc gacctgcccg acctgccata aatgcccgggt gccggaactg 60
ctgggcgggcc cgagcgtgtt tatttttccg ccgaaaccga aagatattct gctgattagc 120
cagaacgcga aagtgacctg cgtgggtggtg gatgtgagcg aagaagaacc ggatgtgcag 180
tttagctgggt ttgtgaacaa cgtggaagtg cataccgcgc agaccagcc gcgcgaagaa 240
cagtataaca gcacctttcg cgtgggtgagc gcgctgccga ttcagcatca ggattggatg 300
agcggcaaag aatttaaagt caaagtgaac aacaaagcgc tgccgagccc gattgaaaaa 360
accattagca aaccgaaagg cctgggtgcgc aaaccgcagg tgtatgtgat gggcccgcgc 420
accgaacagc tgaccgaaca gaccgtgagc ctgacctgcc tgaccagcgg ctttctgccg 480
aacgatattg gcgtggaatg gaccagcaac ggccatattg aaaaaaacta taaaaacacc 540
gaaccgggtga tggatagcga tggcagcttt tttatgtata gcaaactgaa cgtggaacgc 600
agccgctggg atagccgcgc gccgtttgtg tgcagcgtgg tgcataagg cctgcataac 660
catcatgttg aaaaaagcat tagccgcccg ccgggcaaag gcggcagcgg cggcagcggc 720
ggcagcccgc agctgtatag cgcgctggcg aacaaatgct gccatgtggg ctgcacaaaa 780
cgagcctgg cgcgcttttg cggcggcggc agcggcggcg gcagcggcag ctggatggaa 840
gaagtgatta aactgtgcgg ccgcgaactg gtgcgcgcgc agattgcgat ttgcggcatg 900

agcacctgga gc

912

<210> 87
<211> 864
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 87
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggccagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcgat gagcacctgg 180
agcgataaaa cccatacctg cccgccgtgc ccggcgccgg aactgctggg cggcccgagc 240
gtgtttctgt ttccgccgaa accgaaagat accctgatga ttagccgcac cccggaagtg 300
acctgcgtgg tggatggatgt gagccatgaa gatccggaag tgaaatttaa ctggtatgtg 360
gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc 420
tatcgctggg tgagcgtgct gaccgtgctg catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat 480
aaatgcaaag tgagcaacaa agcgtgccg gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg 540
aaaggccagc cgcgcgaaacc gcaggtgtat accctgccgc cgagccgcga tgaactgacc 600
aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctgggtg aaaggctttt atccgagcga tattgcggtg 660
gaatgggaaa gcaacggcca gccggaaaac aactataaaa ccaccccgcc ggtgctggat 720
agcgatggca gcttttttct gtatagcaaa ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag 780
ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat gaagcgtgcg ataaccatta taccagaaaa 840
agcctgagcc tgagcccggg caaa 864

<210> 88
<211> 882
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 88
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggccagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcgat gagcacctgg 180
agcggcagcg gcagcggcag cgataaaacc catacctgcc cgccgtgccg ggcgccggaa 240
ctgctgggcg gcccagcgt gtttctgttt ccgccgaaac cgaaagatac cctgatgatt 300
agccgcaccc cggaagtgac ctgcgtgggtg gtggatgtga gccatgaaga tccggaagtg 360
aaatttaact ggtatgtgga tggcgtggaa gtgcataacg cgaaaaccaa accgcgcgaa 420
gaacagtata acagcaccta tcgcgtgggtg agcgtgctga ccgtgctgca tcaggattgg 480
ctgaacggca aagaatataa atgcaaagtg agcaacaaag cgctgccggc gccgattgaa 540
aaaaccatta gcaaagcgaa aggccagccg cgcgaaaccg aggtgtatac cctgccgccg 600
agccgcgatg aactgaccaa aaaccagggtg agcctgacct gcctggtgaa aggcttttat 660
ccgagcgata ttgcggtgga atgggaaagc aacggccagc cggaaaacaa ctataaaacc 720

```

accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact gaccgtggat      780
aaaagccgct ggcagcaggg caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat      840
aaccattata ccagaaaaag cctgagcctg agcccgggca aa                        882

```

<210> 89
 <211> 882
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 89
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg      60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt      120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcga gagcacctgg      180
agcggcagcg gcagcggcag cgataaaaacc cataccgcgc cgccggcgcc ggcccgga      240
ctgctgggcg gcccgagcgt gtttctgttt ccgccgaaac cgaaagatac cctgatgatt      300
agccgcaccc cggaagtgc ctgcgtggtg gtggatgtga gccatgaaga tccggaagtgc      360
aaatttaact ggtatgtgga tggcgtggaa gtgcataacg cgaaaaccaa accgcgcgaa      420
gaacagtata acagcaccta tcgcgtggtg agcgtgctga ccgtgctgca tcaggattgg      480
ctgaacggca aagaatataa atgcaaagtg agcaacaaag cgctgccggc gccgattgaa      540
aaaaccatta gcaaagcgaa aggccagccg cgcgaaaccg aggtgtatac cctgccgccg      600
agccgcgatg aactgaccaa aaaccaggtg agcctgacct gcctggtgaa aggcttttat      660
ccgagcgata ttgcggtgga atgggaaagc aacggccagc cggaaaacaa ctataaaaacc      720
accccgccgg tgctggatag cgatggcagc ttttttctgt atagcaaact gaccgtggat      780
aaaagccgct ggcagcaggg caacgtgttt agctgcagcg tgatgcatga agcgctgcat      840
aaccattata ccagaaaaag cctgagcctg agcccgggca aa                        882

```

<210> 90
 <211> 882
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 90
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg      60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt      120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcga gagcacctgg      180
agcggcagcg gcagcggcag cccgacctgc ccgacctgcc ataaatgcc ggtgccggaa      240
ctgctgggcg gcccgagcgt gtttatTTTTT ccgccgaaac cgaaagatat tctgctgatt      300
agccagaacg cgaaagtgc ctgcgtggtg gtggatgtga gcgaagaaga accggatgtg      360
cagtttagct ggtttgtgaa caacgtggaa gtgcataacc cgagaccca gccgcgcgaa      420
gaacagtata acagcacctt tcgcgtggtg agcgcgctgc cgattcagca tcaggattgg      480
atgagcggca aagaatttaa atgcaaagtg aacaacaaag cgctgccgag cccgattgaa      540

```

aaaaccatta gcaaaccgaa aggcctggtg cgcaaaccgc aggtgtatgt gatgggcccg	600
ccgaccgaac agctgaccga acagaccgtg agcctgacct gcctgaccag cggctttctg	660
ccgaacgata ttggcgtgga atggaccagc aacggccata ttgaaaaaa ctataaaaac	720
accgaaccgg tgatggatag cgatggcagc ttttttatgt atagcaaact gaacgtggaa	780
cgcagccgct gggatagccg cgcgccgttt gtgtgcagcg tggatcatga aggcctgcat	840
aaccatcatg tggaaaaaag cattagccgc ccgccgggca aa	882

<210> 91
<211> 933
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 91	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggccagcggca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg	180
agcggcggcg gcagcggcgg cggcagcggc accctggtga ccgtgagcag cgaaagcaaa	240
tatggcccgc cgtgcccgcg gtgcccggcg ccggaagcgg cggcgccgga actgctgggc	300
ggcccagcgc tgtttctgtt tccgccgaaa ccgaaagata ccctgatgat tagccgcacc	360
ccggaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agccatgaag atccggaagt gaaatttaac	420
tggtatgttg atggcgtgga agtgcataac gcgaaaacca aaccgcgcga agaacagtat	480
aacagcacct atcgcgtggt gagcgtgctg accgtgctgc atcaggattg gctgaacggc	540
aaagaatata aatgcaaagt gagcaacaaa gcgctgccgg cggcgattga aaaaaccatt	600
agcaaagcga aaggccagcc gcgcgaaccg caggtgtata ccctgccgcc gagccgcgat	660
gaactgacca aaaaccaggt gagcctgacc tgcctggtga aaggctttta tccgagcgat	720
attgcggttg aatgggaaag caacggccag ccggaaaaca actataaaac caccgcccg	780
gtgctggata gcgatggcag cttttttctg tatagcaaac tgaccgtgga taaaagccgc	840
tggcagcagg gcaacgtgtt tagctgcagc gtgatgcatg aagcgctgca taaccattat	900
accagaaaa gcctgagcct gagcccgggc aaa	933

<210> 92
<211> 201
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 92	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggccagcggca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg	180
agcggcggca gcggctgcgg c	201

<210> 93
<211> 201

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 93
ggctgcggca gcggcggcca gctgtatagc gcgctggcga acaaatgctg ccatgtgggc 60
tgcaccaaac gcagcctggc gcgcttttgc ggcgggcgga gcggcgggcg cagcggcagc 120
tggatggaag aagtgattaa actgtgcggc cgcgaaactgg tgcgcgcgca gattgcgatt 180
tgcggcatga gcacctggag c 201

<210> 94
<211> 2238
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 94
gtgccggata aaaccgtgcg ctggtgcgcg gtgagcgaac atgaagcgac caaatgccag 60
agcttttcgcg atcatatgaa aagcgtgatt ccgagcgatg gcccgagcgt ggcggtgcgtg 120
aaaaaagcga gctatctgga ttgcattcgc gcgattgcgg cgaacgaagc ggatgcggtg 180
accctggatg cgggcctggg gtatgatgcg tatctggcgc cgaacaacct gaaaccggtg 240
gtggcggaat tttatggcag caaagaagat ccgcagacct tttattatgc ggtggcggtg 300
gtgaaaaaag atagcggctt tcagatgaac cagctgcgcg gcaaaaaaag ctgccatacc 360
ggcctggggc gcagcgcggg ctggaacatt ccgattggcc tgctgtattg cgatctgccg 420
gaaccgcgca aaccgctgga aaaagcgggt gcgaactttt ttagcggcag ctgcgcgccg 480
tgcgcggatg gcaccgattt tccgcagctg tgccagctgt gcccgggctg cggctgcagc 540
accctgaacc agtatttttg ctatagcggc gcgtttaaat gcctgaaaga tggcgcgggc 600
gatgtggcgt ttgtgaaaca tagcaccatt tttgaaaacc tggcgaacaa agcggatcgc 660
gatcagtatg aactgctgtg cctggataac acccgcaaac cggtggatga atataaagat 720
tgccatctgg cgcagggtgcc gagccatacc gtggtggcgc gcagcatggg cggcaaagaa 780
gatctgattt gggaactgct gaaccaggcg caggaacatt ttggcaaaga taaaagcaaa 840
gaatttcagc tgtttagcag cccgcatggc aaagatctgc tgtttaaaga tagcgcgcac 900
ggctttctga aagtgccgcc gcgcatggat gcgaaaatgt atctgggcta tgaatatgtg 960
accgcgattc gcaacctgcg cgaaggcacc tgcccgaag cgccgaccga tgaatgcaaa 1020
ccggtgaaat ggtgcgcgct gagccatcat gaacgcctga aatgcgatga atggagcgtg 1080
aacagcgtgg gcaaaattga atgcgtgagc gcggaaacca ccgaagattg cattgcgaaa 1140
attatgaacg gcgaagcgga tgcgatgagc ctggatggcg gctttgtgta tattgcgggc 1200
aaatgcggcc tgggtgccgt gctggcgga aactataaca aaagcgataa ctgcgaagat 1260
accccgaag cgggctatth tgcggtggcg gtggtgaaaa aaagcgcgag cgatctgacc 1320
tgggataacc tgaaaggcaa aaaaagctgc cataccgcgg tgggccgcac cgcgggctgg 1380
aacattccga tgggcctgct gtataacaaa attaaccatt gccgctttga tgaatthttt 1440
agcgaaggct gcgcgccggg cagcaaaaaa gatagcagcc tgtgcaaact gtgcatgggc 1500

agcggcctga	acctgtgcga	accgaacaac	aaagaaggct	attatggcta	taccggcgcg	1560
tttcgctgcc	tgggtgaaaa	aggcgatgtg	gcgtttgtga	aacatcagac	cgtgccgcag	1620
aacaccggcg	gcaaaaaacc	ggatccgtgg	gcgaaaaacc	tgaacgaaaa	agattatgaa	1680
ctgctgtgcc	tggatggcac	ccgcaaaccg	gtggaagaat	atgcgaactg	ccatctggcg	1740
cgcgcgccga	accatgcggt	ggtgacccgc	aaagataaag	aagcgtgcgt	gcataaaatt	1800
ctgcgccagc	agcagcatct	gtttggcagc	aacgtgaccg	attgcagcgg	caacttttgc	1860
ctgtttcgca	gcgaaaccaa	agatctgctg	tttcgcgatg	ataccgtgtg	cctggcgaaa	1920
ctgcatgata	gcaacaccta	tgaaaaatat	ctgggcgaag	aatatgtgaa	agcgggtggc	1980
aacctgcgca	aatgcagcac	cagcagcctg	ctggaagcgt	gcacctttcg	ccgcccgatt	2040
gaaggccgca	tggatcagct	gtatagcgcg	ctggcgaaca	aatgctgcca	tgtgggctgc	2100
accaaacgca	gcctggcgcg	cttttgcggc	ggcggcagcg	gcggcggcag	cggcagctgg	2160
atggaagaag	tgattaaact	gtgcggccgc	gaactggtgc	gcgcgcagat	tgcgatttgc	2220
ggcatgagca	cctgggagc					2238

<210> 95
<211> 2538
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 95						
gtgccggata	aaaccgtgcg	ctgggtgcgcg	gtgagcgaac	atgaagcgac	caaatgccag	60
agctttcgcg	atcatatgaa	aagcgtgatt	ccgagcgatg	gcccgagcgt	ggcgtgcgtg	120
aaaaaagcga	gctatctgga	ttgcattcgc	gcgattgcgg	cgaacgaagc	ggatgcggtg	180
accctggatg	cgggccttgt	gtatgatgcg	tatctggcgc	cgaacaacct	gaaaccggtg	240
gtggcggaat	tttatggcag	caaagaagat	ccgcagacct	tttattatgc	ggtggcggtg	300
gtgaaaaaag	atagcggctt	tcagatgaac	cagctgcgcg	gcaaaaaaag	ctgccatacc	360
ggcctggggc	gcagcgcggg	ctggaacatt	ccgattggcc	tgctgtattg	cgatctgccg	420
gaaccgcgca	aaccgctgga	aaaagcggtg	gcgaactttt	ttagcggcag	ctgcgcgccg	480
tgcgcggatg	gcaccgattt	tccgcagctg	tgccagctgt	gcccgggctg	cggctgcagc	540
accctgaacc	agtatttttg	ctatagcggc	gcgttttaaat	gcctgaaaga	tggcgcgggc	600
gatgtggcgt	ttgtgaaaca	tagcaccatt	tttgaaaacc	tggcgaacaa	agcggatcgc	660
gatcagtatg	aactgctgtg	cctggataac	accgcgaaac	cgggtggatga	atataaagat	720
tgccatctgg	cgcaggtgcc	gagccatacc	gtggtggcgc	gcagcatggg	cggcaaagaa	780
gatctgattt	gggaactgct	gaaccaggcg	caggaacatt	ttggcaaaga	taaaagcaaa	840
gaatttcagc	tgttttagcag	cccgcattgg	aaagatctgc	tgttttaaaga	tagcgcgcac	900
ggctttctga	aagtgccgcc	gcgcatggat	gcgaaaatgt	atctgggcta	tgaatatgtg	960
accgcgattc	gcaacctgcg	cgaaggcacc	tgcccgggaag	cgccgaccga	tgaatgcaaa	1020
ccggtgaaat	ggtgcgcgct	gagccatcat	gaacgcctga	aatgcgatga	atggagcgtg	1080
aacagcgtgg	gcaaaattga	atgcgtgagc	gcggaaacca	ccgaagattg	cattgcgaaa	1140
attatgaacg	gcgaagcgga	tgcgatgagc	ctggatggcg	gcttttgtga	tattgcgggc	1200

```

aatgcgggcc tgggtgccggt gctggcgga aactataaca aaagcgataa ctgcgaagat 1260
accccgggaag cgggctatatt tgcgggtggcg gtgggtgaaaa aaagcgcgag cgatctgacc 1320
tgggataacc tgaaaggcaa aaaaagctgc cataccgcgg tgggccgcac cgcgggctgg 1380
aacattccga tgggcctgct gtataacaaa attaacatt gccgctttga tgaatTTTTT 1440
agcgaaggct gcgcgccggg cagcaaaaa gatagcagcc tgtgcaaact gtgcatgggc 1500
agcggcctga acctgtgcga accgaacaac aaagaaggct attatggcta taccggcgcg 1560
tttcgctgcc tgggtgaaaa aggcgatgtg gcgtttgtga aacatcagac cgtgccgcag 1620
aacaccggcg gcaaaaaccc ggatccgtgg gcgaaaaacc tgaacgaaaa agattatgaa 1680
ctgctgtgcc tggatggcac ccgcaaaccg gtggaagaat atgcgaactg ccatctggcg 1740
cgcgcgccga accatgcggt ggtgaccgc aaagataaag aagcgtgcgt gcataaaatt 1800
ctgcgccagc agcagcatct gtttggcagc aacgtgaccg attgcagcgg caacttttgc 1860
ctgtttcgca gcgaaaccaa agatctgctg tttcgcatg ataccgtgtg cctggcgaaa 1920
ctgcatgatc gcaacaccta tgaaaaatat ctgggcgaag aatatgtgaa agcgggtgggc 1980
aacctgcgca aatgcagcac cagcagcctg ctggaagcgt gcacctttcg ccgcccgatt 2040
gaaggccgca tggatgatag ctggatggaa gaagtgatta aactgtgcgg ccgcgaactg 2100
gtgcgcgcgc agattgcgat ttgcggcatg agcacctgga gcaaacgcag cctgagccag 2160
gaagatgcgc cgcagacccc gcgcccggtg gcggaaattg tgccgagctt tattaacaaa 2220
gataccgaaa ccattaacat gatgagcgaa tttgtggcga acctgccgca ggaactgaaa 2280
ctgaccctga gcgaaatgca gccggcgctg ccgcagctgc agcagcatgt gccggtgctg 2340
aaagatagca gcctgctgtt tgaagaattt aaaaaactga ttcgcaaccg ccagagcgaa 2400
gcggcggata gcagcccag cgaactgaaa tatctgggcc tggataccca tagccgcaaa 2460
aaacgccagc tgtatagcgc gctggcgaac aaatgctgcc atgtgggctg caccaaacgc 2520
agcctggcgc gcttttgc 2538

```

<210> 96
<211> 1956
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 96
gatgcgcata aaagcgaagt ggcgcacatgc tttaaagatc tgggcgaaga aaacttttaa 60
gcgctgggtgc tgattgcgtt tgcgcagtat ctgcagcagt gcccgtttga agatcatgtg 120
aaactgggtga acgaagtgc cgaatttgcg aaaacctgcg tggcggatga aagcgcgga 180
aactgcgata aaagcctgca taccctgttt ggcgataaac tgtgcaccgt ggcgaccctg 240
cgcgaaacct atggcgaaat ggcggattgc tgcgcgaaac aggaaccgga acgcaacgaa 300
tgctttctgc agcataaaga tgataacccg aacctgccgc gcctgggtgcg cccggaagtg 360
gatgtgatgt gcaccgcgtt tcatgataac gaagaaacct ttctgaaaaa atatctgtat 420
gaaattgcgc gccgccatcc gtatTTTTTat gcgccggaac tgctgttttt tgcgaaacgc 480
tataaagcgg cgtttaccga atgctgccag gcggcggata aagcggcgtg cctgctgccg 540

```

aaactggatg aactgcgcga tgaaggcaaa gcgagcagcg cgaaacagcg cctgaaatgc	600
gcgagcctgc agaaatttgg cgaacgcgcg tttaaagcgt gggcgggtggc gcgcctgagc	660
cagcgctttc cgaaagcgga atttgcggaa gtgagcaaac tggtgaccga tctgaccaaa	720
gtgcataccg aatgctgcc a tggcgatctg ctggaatgcg cggatgatcg cgcggatctg	780
gcgaaatata tttgcgaaaa ccaggatagc attagcagca aactgaaaga atgctgcgaa	840
aaaccgctgc tggaaaaaag ccattgcatt gcggaagtgg aaaacgatga aatgccggcg	900
gatctgccga gcctggcggc ggattttgtg gaaagcaaag atgtgtgcaa aaactatgcg	960
gaagcgaaag atgtgtttct gggcatgttt ctgtatgaat atgcgcgccg ccatccggat	1020
tatagcgtgg tgctgctgct gcgcctggcg aaaacctatg aaaccaccct ggaaaaatgc	1080
tgcgcgggcg cggatccgca tgaatgctat gcgaaagtgt ttgatgaatt taaaccgctg	1140
gtggaagaac cgcagaacct gattaaacag aactgcgaac tgtttgaaca gctgggcgaa	1200
tataaatttc agaacgcgct gctgggtgcg tataccaaaa aagtgccgca ggtgagcacc	1260
ccgaccctgg tggaagtgag ccgcaacctg ggcaaagtgg gcagcaaatg ctgcaaacat	1320
ccggaagcga aacgcatgcc gtgcgcggaa gattatctga gcgtgggtgct gaaccagctg	1380
tgcgctgctg atgaaaaaac cccgggtgagc gatcgcgtga ccaaatgctg caccgaaagc	1440
ctgggtgaacc gccgcccgtg ctttagcgcg ctggaagtgg atgaaaccta tgtgccgaaa	1500
gaattttaacg cgaaaacctt tacctttcat gcggatattt gcaccctgag cgaaaaagaa	1560
cgccagatta aaaaacagac cgcgctggtg gaactggtga aacataaacc gaaagcgacc	1620
aaagaacagc tgaaagcggg gatggatgat tttgcggcgt ttgtggaaaa atgctgcaaa	1680
gcggatgata aagaaacctg ctttgcggaa gaaggcaaaa aactggtggc ggcgagccag	1740
gcggcgctgg gcctgattga aggccgcatg gatcagctgt atagcgcgct ggcgaaacaaa	1800
tgctgccatg tgggctgcac caaacgcagc ctggcgcgct tttgcggcgg cggcagcggc	1860
ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg attaaactgt gcggccgcga actggtgcgc	1920
gcgcagattg cgatttgcg catgagcacc tggagc	1956

- <210> 97
- <211> 2256
- <212> DNA
- <213> 人工序列

- <220>
- <223> 松弛素融合多肽

<400> 97	
gatgcgcata aaagcgaagt ggcgcatcgc tttaaagatc tgggcgaaga aaacttttaa	60
gcgctggtgc tgattgcgtt tgcgcagtat ctgcagcagt gcccgtttga agatcatgtg	120
aaactggtga acgaagtgac cgaatttgcg aaaacctgcg tggcggatga aagcgcggaa	180
aactgcgata aaagcctgca taccctgttt ggcgataaac tgtgcaccgt ggcgaccctg	240
cgcgaaacct atggcgaaat ggcggtattg tgcgcgaaac aggaaccgga acgcaacgaa	300
tgctttctgc agcataaaga tgataacccg aacctgccgc gcctggtgcg cccggaagtg	360
gatgtgatgt gcaccgcgtt tcatgataac gaagaaacct ttctgaaaaa atatctgtat	420
gaaattgcgc gccgccatcc gtatTTTTAT gcgccggaac tgctgttttt tgcgaaacgc	480
tataaagcgg cgtttaccga atgctgccag gcggcggata aagcggcgtg cctgctgccg	540

aaactggatg aactgcgcga tgaaggcaaa gcgagcagcg cgaaacagcg cctgaaatgc	600
gcgagcctgc agaaatttgg cgaacgcgcg tttaaagcgt gggcggtggc gcgcctgagc	660
cagcgctttc cgaaagcgga atttgcggaa gtgagcaaac tggtgaccga tctgaccaaa	720
gtgcataccg aatgctgcc a tggcgatctg ctggaatgcg cggatgatcg cgcggatctg	780
gcgaaatata tttgcgaaaa ccaggatagc attagcagca aactgaaaga atgctgcgaa	840
aaaccgctgc tggaaaaaag ccattgcatt gcggaagtgg aaaacgatga aatgccggcg	900
gatctgccga gcctggcggc ggattttgtg gaaagcaaag atgtgtgcaa aaactatgcg	960
gaagcgaaag atgtgtttct gggcatgttt ctgtatgaat atgcgcgccg ccatccggat	1020
tatagcgtgg tgctgctgct gcgcctggcg aaaacctatg aaaccaccct ggaaaaatgc	1080
tgcgcggcgg cggatccgca tgaatgctat gcgaaagtgt ttgatgaatt taaaccgctg	1140
gtggaagaac cgcagaacct gattaaacag aactgcgaac tgtttgaaca gctgggcgaa	1200
tataaatttc agaacgcgct gctggtgcgc tataccaaaa aagtgccgca ggtgagcacc	1260
ccgaccctgg tggaagtgag ccgcaacctg ggcaaagtgg gcagcaaatg ctgcaaacat	1320
ccggaagcga aacgcatgcc gtgcgcggaa gattatctga gcgtggtgct gaaccagctg	1380
tgcgtgctgc atgaaaaaac cccggtgagc gatcgcgtga ccaaatgctg caccgaaagc	1440
ctggtgaacc gccgccgtg ctttagcgcg ctggaagtgg atgaaaccta tgtgccgaaa	1500
gaatttaacg cggaaacctt tacctttcat gcggatattt gcaccctgag cgaaaaagaa	1560
cgccagatta aaaaacagac cgcgctggtg gaactggtga aacataaacc gaaagcgacc	1620
aaagaacagc tgaaagcggg gatggatgat tttgcggcgt ttgtggaaaa atgctgcaaa	1680
gcggatgata aagaaacctg ctttgcggaa gaaggcaaaa aactggtggc ggcgagccag	1740
gcggcgctgg gcctgattga aggccgcatg gatgatagct ggatggaaga agtgattaaa	1800
ctgtgcggcc gcgaactggt gcgcgcgcag attgcgattt gcggcatgag cacctggagc	1860
aaacgcagcc tgagccagga agatgcgccg cagacccgcg gcccggtggc ggaaattgtg	1920
ccgagcttta ttaacaaaga taccgaaacc attaacatga tgagcgaatt tgtggcgaac	1980
ctgccgcagg aactgaaact gaccctgagc gaaatgcagc cggcgctgcc gcagctgcag	2040
cagcatgtgc cgggtgctgaa agatagcagc ctgctgtttg aagaatttaa aaaactgatt	2100
cgcaaccgcc agagcgaagc ggcggatagc agcccgagcg aactgaaata tctgggcctg	2160
gatacccata gccgcaaaaa acgccagctg tatagcgcgc tggcgaacaa atgctgccat	2220
gtgggctgca ccaaacgcag cctggcgcgc ttttgc	2256

- <210> 98
- <211> 894
- <212> DNA
- <213> 人工序列
- <220>
- <223> 松弛素融合多肽

<400> 98	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcaaacgcag cctgagccgc aaaaaacgca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg	180

```

agcattgaag gccgcatgga tccgaaagcg tgcgataaaa cccataacctg cccgccgtgc      240
ccggcgccgg aactgctggg cggcccagc gtgtttctgt ttccgccgaa accgaaagat      300
accctgatga ttagccgcac cccggaagt acctgctggg tggatgatgt gagccatgaa      360
gatccggaag tgaaatttaa ctggtatgt gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc      420
aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc tatcgcgtgg tgagcgtgct gaccgtgctg      480
catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat aaatgcaaag tgagcaacaa agcgtgccg      540
gcgccgattg aaaaaacat tagcaaagcg aaaggccagc cgcgcgaacc gcaggtgtat      600
accctgccgc cgagccgcga tgaactgacc aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctgggtg      660
aaaggctttt atccgagcga tattgcggtg gaatgggaaa gcaacggcca gccgaaaaac      720
aactataaaa ccaccccgcc ggtgctggat agcgatggca gcttttttct gtatagcaaa      780
ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat      840
gaagcgctgc ataaccatta taccagaaa agcctgagcc tgagcccggg caaa      894

```

<210> 99
<211> 894
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 99
ccgaaagcgt gcgataaaac ccataacctg ccgccgtgcc cggcgccgga actgctgggc      60
ggcccagcgc gtgtttctgtt tccgccgaaa ccgaaagata ccctgatgat tagccgcacc      120
ccggaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agccatgaag atccggaagt gaaatttaac      180
tggtatgtgg atggcgtgga agtgcataac gcgaaaacca aaccgcgcga agaacagtat      240
aacagcacct atcgcgtggt gagcgtgctg accgtgctgc atcaggattg gctgaacggc      300
aaagaatata aatgcaaagt gagcaacaaa gcgctgccgg cgccgattga aaaaaccatt      360
agcaaagcga aaggccagcc gcgcgaaccg caggtgtata ccctgccgcc gagccgcgat      420
gaactgacca aaaaccaggt gagcctgacc tgcctgggtga aaggctttta tccgagcgat      480
attgcggtgg aatgggaaag caacggccag ccgaaaaaca actataaaac caccgcccg      540
gtgctggata gcgatggcag cttttttctg tatagcaaac tgaccgtgga taaaagccgc      600
tggcagcagg gcaacgtgtt tagctgcagc gtgatgcatg aagcgtgca taaccattat      660
accagaaaaa gcctgagcct gagcccgggc aaaattgaag gccgcatgga tcagctgtat      720
agcgcgctgg cgaacaaatg ctgccatgtg ggctgcacca aacgcagcct ggcgcgcttt      780
tgcaaacgca gcctgagccg caaaaaacgc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc      840
ggccgcgaac tgggtgcgcgc gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gage      894

```

<210> 100
<211> 165
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 100
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg      60

```

gcgcgctttt gcggcgggcgg cagctggatg gaagaagtga ttaaactgtg cggccgcgaa 120
ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc atgagcacct ggagc 165

<210> 101
<211> 171
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 101
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcgggcgg cagcggcagc tggatggaag aagtgattaa actgtgcggc 120
cgcgaaactgg tgcgcgcgca gattgcgatt tgcggcatga gcacctggag c 171

<210> 102
<211> 177
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 102
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcgggcgg cagcggcggc ggcagctgga tggaagaagt gattaaactg 120
tgcggccgcg aactggtgcg cgcgcagatt gcgatttgcg gcatgagcac ctggagc 177

<210> 103
<211> 183
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 103
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcgggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt 120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg 180
agc
183

<210> 104
<211> 189
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 104
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gcggcgggcgg cagcggcggc ggcagcggcg gcggcagctg gatggaagaa 120
gtgattaaac tgtgcggccg cgaactggtg cgcgcgcaga ttgcgatttg cggcatgagc 180
acctggagc
189

<210>	105	
<211>	201	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	105	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg		60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggacagcgcg gcggcagcgg cggcggcagc		120
tggatggaag aagtgattaa actgtgcggc cgcgaaactgg tgcgcgcgca gattgcgatt		180
tgcggcatga gcacctggag c		201
<210>	106	
<211>	174	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	106	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg		60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc		120
ggccgcgaac tgggtgcgcgc gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gagg		174
<210>	107	
<211>	192	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	107	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg		60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggacagcgcg gcggcagcag ctggatggaa		120
gaagtgatta aactgtgcgg ccgcgaactg gtgcgcgcgc agattgcgat ttgcggcatg		180
agcacctgga gc		192
<210>	108	
<211>	195	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	108	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg		60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggacagcgcg gcggcagcgg cagctggatg		120
gaagaagtga ttaaactgtg cggccgcgaa ctgggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc		180
atgagcacct ggagc		195
<210>	109	
<211>	198	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	

<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	109	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg		60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggcg gcggcagcgg cggcagctgg		120
atggaagaag tgattaaact gtgcggccgc gaactggtgc gcgcgcagat tgcgatttgc		180
ggcatgagca cctggagc		198
<210>	110	
<211>	894	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	110	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg		60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt		120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcagat gagcacctgg		180
agcattgaag gccgcatgga tccgaaagcg tgcgataaaa cccataacctg cccgccgtgc		240
ccggcgccgg aactgctggg cggcccagagc gtgttttctgt ttccgccgaa accgaaagat		300
accctgatga ttagccgcac cccggaagtg acctgcgtgg tggatggatgt gagccatgaa		360
gatccggaag tgaaatttaa ctggtatgtg gatggcgtgg aagtgcataa cgcgaaaacc		420
aaaccgcgcg aagaacagta taacagcacc tatcgcgtgg tgagcgtgct gaccgtgctg		480
catcaggatt ggctgaacgg caaagaatat aaatgcaaag tgagcaacaa agcgcgtgccg		540
gcgccgattg aaaaaacccat tagcaaagcg aaaggccagc cgcgcgaaacc gcaggtgtat		600
accctgccgc cgagccgcga tgaactgacc aaaaaccagg tgagcctgac ctgcctgggtg		660
aaaggctttt atccgagcga tattgcggtg gaatgggaaa gcaacggcca gccggaaaac		720
aactataaaa ccaccccgcc ggtgctggat agcgatggca gcttttttct gtatagcaaa		780
ctgaccgtgg ataaaagccg ctggcagcag ggcaacgtgt ttagctgcag cgtgatgcat		840
gaagcgctgc ataaccatta taccagaaa agcctgagcc tgagcccggg caaa		894
<210>	111	
<211>	873	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	鬆弛素融合多肽	
<400>	111	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg		60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt		120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga ttgcggcagat gagcacctgg		180
agcggcggca gcccagacctg cccgacctgc cataaatgcc cggtgccgga actgctgggc		240
ggcccagcgc tgtttatatt tccgccgaaa ccgaaagata ttctgctgat tagccagaac		300
gcgaaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agcgaagaag aaccggatgt gcagtttagc		360

tggtttgtga acaacgtgga agtgcatacc gcgagacccc agccgcgcga agaacagtat	420
aacagcacct ttcgcgtggt gagcgcgctg cgcattcagc atcaggattg gatgagcggc	480
aaagaatttta aatgcaaagt gaacaacaaa gcgctgccga gcccattga aaaaaccatt	540
agcaaaccga aaggcctggt gcgcaaaccg cagggtgtatg tgatgggccc gccgaccgaa	600
cagctgaccg aacagaccgt gagcctgacc tgcctgacca gcggcctttct gccgaacgat	660
attggcgtgg aatggaccag caacggccat attgaaaaaa actataaaaa caccgaaccg	720
gtgatggata gcgatggcag cttttttatg tatagcaaac tgaacgtgga acgcagccgc	780
tgggatagcc gcgcgccgtt tgtgtgcagc gtggtgcatg aaggcctgca taaccatcat	840
gtggaaaaaa gcattagccg cccgccgggc aaa	873

<210> 112
 <211> 882
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 松弛素融合多肽

<400> 112	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg	180
agcggcggca gcggcggcag cccgacctgc ccgacctgcc ataaatgcc ggtgccggaa	240
ctgctgggcg gcccagcgt gttttttttt ccgccgaaac cgaaagatat tctgctgatt	300
agccagaacg cgaaagtgc ctgcgtgggt gtggatgtga gcgaagaaga accgatgtg	360
cagtttagct ggtttgtgaa caacgtggaa gtgcataccg cgcagacca gccgcgcgaa	420
gaacagtata acagcacctt tcgcgtgggt agcgcgctgc cgattcagca tcaggattgg	480
atgagcggca aagaatttaa atgcaaagtg aacaacaaag cgctgccgag cccgattgaa	540
aaaaccatta gcaaaccgaa aggcctgggt cgcaaaccgc aggtgtatgt gatgggccc	600
ccgaccgaac agctgaccga acagaccgtg agcctgacct gcctgaccag cggcctttctg	660
ccgaacgata ttggcgtgga atggaccagc aacggccata ttgaaaaaaa ctataaaaac	720
accgaaccgg tgatggatag cgatggcagc ttttttatgt atagcaaact gaacgtggaa	780
cgcagccgct gggatagccg cgcgccgttt gtgtgcagcg tggtgcatga aggcctgcat	840
aaccatcatg tggaaaaaag cattagccgc ccgccgggca aa	882

<210> 113
 <211> 891
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 松弛素融合多肽

<400> 113	
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgttg gctgcaccaa acgcagcctg	60
gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt	120
aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg cagattgcga tttgcggcat gagcacctgg	180
agcggcggca gcggcggcag cggcggcagc ccgacctgcc cgacctgcca taaatgccc	240

```

gtgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg tttatttttc cgccgaaacc gaaagatatt      300
ctgctgatta gccagaacgc gaaagtgacc tgcttggtgg tggatgtgag cgaagaagaa      360
ccggatgtgc agtttagctg gtttgtgaac aacgtggaag tgcataccgc gcagaccag      420
ccgcgcgaag aacagtataa cagcaccttt cgcttggtga gcgcgctgcc gattcagcat      480
caggattgga tgagcggcaa agaatttaaa tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc      540
ccgattgaaa aaaccattag caaaccgaaa ggcttggtgc gcaaaccgca ggtgtatgtg      600
atgggcccgc cgaccgaaca gctgaccgaa cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc      660
ggctttctgc cgaacgatat tggcgtggaa tggaccagca acggccatat tgaaaaaac      720
tataaaaaca ccgaaccggt gatgtagcgc gatggcagct tttttatgta tagcaaaactg      780
aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc gcgccgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa      840
ggcctgcata accatcatgt ggaaaaaagc attagccgcc cgccgggcaa a      891

```

<210> 114
<211> 876
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 114
ccgacctgcc cgacctgcca taaatgcccg gtgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg      60
tttatttttc cgccgaaacc gaaagatatt ctgctgatta gccagaacgc gaaagtgacc      120
tgcttggtgg tggatgtgag cgaagaagaa ccggatgtgc agtttagctg gtttgtgaac      180
aacgtggaag tgcataccgc gcagaccag ccgcgcgaag aacagtataa cagcaccttt      240
cgcttggtga gcgcgctgcc gattcagcat caggattgga tgagcggcaa agaatttaaa      300
tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc ccgattgaaa aaaccattag caaaccgaaa      360
ggccttggtgc gcaaaccgca ggtgtatgtg atgggcccgc cgaccgaaca gctgaccgaa      420
cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc ggctttctgc cgaacgatat tggcgtggaa      480
tggaccagca acggccatat tgaaaaaac tataaaaaca ccgaaccggt gatgtagcgc      540
gatggcagct tttttatgta tagcaaaactg aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc      600
gcgccgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa ggcctgcata accatcatgt ggaaaaaagc      660
attagccgcc cgccgggcaa aggcggcagc ccgcagctgt atagcgcgct ggcaacaaa      720
tgctgccatg tgggctgcac caaacgcagc ctggcgcgct tttgcggcgg cggcagcggc      780
ggcggcagcg gcagctggat ggaagaagtg attaaactgt gcggccgcga actggtgcgc      840
gcgcagattg cgatttgagg catgagcacc tggagc      876

```

<210> 115
<211> 885
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

```

<400> 115
ccgacctgcc cgacctgcca taaatgcccg gtgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg      60

```

tttatTTTTtC cgccgaaacc gaaagatatT ctgctgatta gccagaacgc gaaagtgacc 120
tgCGtGgtGg tggatgtgag cgaagaagaa ccggatgtgc agtttagctg gtttgtgaac 180
aacgtggaag tgcataccgc gcagacccag ccgcgcgaag aacagtataa cagcaccttt 240
cgCGtGgtGa gcgcgctgcc gattcagcat caggattgga tgagcggcaa agaatttaaa 300
tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc ccgattgaaa aaaccattag caaacgaaa 360
ggcctggtgc gcaaaccgca ggtgtatgtg atgggcccgc cgaccgaaca gctgaccgaa 420
cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc ggctttctgc cgaacgatat tggCGtggaa 480
tgGaccagca acggccatat tgaaaaaac tataaaaaca ccgaaccggt gatggatagc 540
gatggcagct tttttatgta tagcaaaactg aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc 600
gcgCCgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa ggCctgcata accatcatgt ggaaaaaagc 660
attagccgcc cgccgggcaa aggcggcagc ggCGgcagcc cgcagctgta tagCGcgtg 720
gcgaacaaat gctgccatgt gggctgcacc aaacgcagcc tggCGcgtt ttgcggcggc 780
ggcagcggcg gcggcagcgg cagctggatg gaagaagtga ttaaaactgt cgGCCgcgaa 840
ctggtgcgcg cgcagattgc gatttgcggc atgagcacct ggagc 885

<210> 116
<211> 894
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 松弛素融合多肽

<400> 116
ccgacctgcc cgacctgcca taaatgcccg gtgccggaac tgctgggcgg cccgagcgtg 60
tttatTTTTtC cgccgaaacc gaaagatatT ctgctgatta gccagaacgc gaaagtgacc 120
tgCGtGgtGg tggatgtgag cgaagaagaa ccggatgtgc agtttagctg gtttgtgaac 180
aacgtggaag tgcataccgc gcagacccag ccgcgcgaag aacagtataa cagcaccttt 240
cgCGtGgtGa gcgcgctgcc gattcagcat caggattgga tgagcggcaa agaatttaaa 300
tgcaaagtga acaacaaagc gctgccgagc ccgattgaaa aaaccattag caaacgaaa 360
ggcctggtgc gcaaaccgca ggtgtatgtg atgggcccgc cgaccgaaca gctgaccgaa 420
cagaccgtga gcctgacctg cctgaccagc ggctttctgc cgaacgatat tggCGtggaa 480
tgGaccagca acggccatat tgaaaaaac tataaaaaca ccgaaccggt gatggatagc 540
gatggcagct tttttatgta tagcaaaactg aacgtggaac gcagccgctg ggatagccgc 600
gcgCCgtttg tgtgcagcgt ggtgcatgaa ggCctgcata accatcatgt ggaaaaaagc 660
attagccgcc cgccgggcaa aggcggcagc ggCGgcagcg gcggcagccc gcagctgtat 720
agCGcgtgg cgaacaaatg ctgccatgtg ggctgcacca aacgcagcct ggCGcgttt 780
tgCGgcggcg gcagcggcgg cggcagcggc agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc 840
ggccgcgaac tggTgcgcgc gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gagc 894

<210> 117
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 117

Gln Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr
1 5 10 15

Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys
20

<210> 118
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人

<400> 118

Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys
1 5 10 15

<210> 119
<211> 28
<212> PRT
<213> 智人

<400> 119

Ser Trp Met Glu Glu Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg
1 5 10 15

Ala Gln Ile Ala Ile Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
20 25

<210> 120
<211> 231
<212> PRT
<213> 智人

<400> 120

Pro Lys Ala Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
1 5 10 15

Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
20 25 30

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
35 40 45

Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
50 55 60

Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
65 70 75 80

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
85 90 95

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
100 105 110

Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
115 120 125

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys

130

135

140

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 145 150 155 160

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 165 170 175

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 180 185 190

Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 195 200 205

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 210 215 220

Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 225 230

<210> 121
 <211> 226
 <212> PRT
 <213> 褐鼠(Rattus Norvegicus)

<400> 121

Thr Cys Pro Thr Cys His Lys Cys Pro Val Pro Glu Leu Leu Gly Gly
 1 5 10 15

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Ile Leu Leu Ile
 20 25 30

Ser Gln Asn Ala Lys Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Glu Glu
 35 40 45

Glu Pro Asp Val Gln Phe Ser Trp Phe Val Asn Asn Val Glu Val His
 50 55 60

Thr Ala Gln Thr Gln Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Phe Arg
 65 70 75 80

Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln His Gln Asp Trp Met Ser Gly Lys
 85 90 95

Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ser Pro Ile Glu
 100 105 110

Lys Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Leu Val Arg Lys Pro Gln Val Tyr
 115 120 125

Val Met Gly Pro Pro Thr Glu Gln Leu Thr Glu Gln Thr Val Ser Leu
 130 135 140

Thr Cys Leu Thr Ser Gly Phe Leu Pro Asn Asp Ile Gly Val Glu Trp
 145 150 155 160

Thr Ser Asn Gly His Ile Glu Lys Asn Tyr Lys Asn Thr Glu Pro Val

165

170

175

Met Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Met Tyr Ser Lys Leu Asn Val Glu
 180 185 190

Arg Ser Arg Trp Asp Ser Arg Ala Pro Phe Val Cys Ser Val Val His
 195 200 205

Glu Gly Leu His Asn His His Val Glu Lys Ser Ile Ser Arg Pro Pro
 210 215 220

Gly Lys
 225

<210> 122
 <211> 679
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 122

Val Pro Asp Lys Thr Val Arg Trp Cys Ala Val Ser Glu His Glu Ala
 1 5 10 15

Thr Lys Cys Gln Ser Phe Arg Asp His Met Lys Ser Val Ile Pro Ser
 20 25 30

Asp Gly Pro Ser Val Ala Cys Val Lys Lys Ala Ser Tyr Leu Asp Cys
 35 40 45

Ile Arg Ala Ile Ala Ala Asn Glu Ala Asp Ala Val Thr Leu Asp Ala
 50 55 60

Gly Leu Val Tyr Asp Ala Tyr Leu Ala Pro Asn Asn Leu Lys Pro Val
 65 70 75 80

Val Ala Glu Phe Tyr Gly Ser Lys Glu Asp Pro Gln Thr Phe Tyr Tyr
 85 90 95

Ala Val Ala Val Val Lys Lys Asp Ser Gly Phe Gln Met Asn Gln Leu
 100 105 110

Arg Gly Lys Lys Ser Cys His Thr Gly Leu Gly Arg Ser Ala Gly Trp
 115 120 125

Asn Ile Pro Ile Gly Leu Leu Tyr Cys Asp Leu Pro Glu Pro Arg Lys
 130 135 140

Pro Leu Glu Lys Ala Val Ala Asn Phe Phe Ser Gly Ser Cys Ala Pro
 145 150 155 160

Cys Ala Asp Gly Thr Asp Phe Pro Gln Leu Cys Gln Leu Cys Pro Gly
 165 170 175

Cys Gly Cys Ser Thr Leu Asn Gln Tyr Phe Gly Tyr Ser Gly Ala Phe
 180 185 190

Lys Cys Leu Lys Asp Gly Ala Gly Asp Val Ala Phe Val Lys His Ser

195					200					205					
Thr	Ile	Phe	Glu	Asn	Leu	Ala	Asn	Lys	Ala	Asp	Arg	Asp	Gln	Tyr	Glu
	210					215					220				
Leu	Leu	Cys	Leu	Asp	Asn	Thr	Arg	Lys	Pro	Val	Asp	Glu	Tyr	Lys	Asp
225					230					235					240
Cys	His	Leu	Ala	Gln	Val	Pro	Ser	His	Thr	Val	Val	Ala	Arg	Ser	Met
				245					250					255	
Gly	Gly	Lys	Glu	Asp	Leu	Ile	Trp	Glu	Leu	Leu	Asn	Gln	Ala	Gln	Glu
			260					265					270		
His	Phe	Gly	Lys	Asp	Lys	Ser	Lys	Glu	Phe	Gln	Leu	Phe	Ser	Ser	Pro
		275					280					285			
His	Gly	Lys	Asp	Leu	Leu	Phe	Lys	Asp	Ser	Ala	His	Gly	Phe	Leu	Lys
	290					295					300				
Val	Pro	Pro	Arg	Met	Asp	Ala	Lys	Met	Tyr	Leu	Gly	Tyr	Glu	Tyr	Val
305					310					315					320
Thr	Ala	Ile	Arg	Asn	Leu	Arg	Glu	Gly	Thr	Cys	Pro	Glu	Ala	Pro	Thr
				325					330					335	
Asp	Glu	Cys	Lys	Pro	Val	Lys	Trp	Cys	Ala	Leu	Ser	His	His	Glu	Arg
			340					345					350		
Leu	Lys	Cys	Asp	Glu	Trp	Ser	Val	Asn	Ser	Val	Gly	Lys	Ile	Glu	Cys
		355					360					365			
Val	Ser	Ala	Glu	Thr	Thr	Glu	Asp	Cys	Ile	Ala	Lys	Ile	Met	Asn	Gly
	370					375					380				
Glu	Ala	Asp	Ala	Met	Ser	Leu	Asp	Gly	Gly	Phe	Val	Tyr	Ile	Ala	Gly
385					390					395					400
Lys	Cys	Gly	Leu	Val	Pro	Val	Leu	Ala	Glu	Asn	Tyr	Asn	Lys	Ser	Asp
				405					410					415	
Asn	Cys	Glu	Asp	Thr	Pro	Glu	Ala	Gly	Tyr	Phe	Ala	Val	Ala	Val	Val
			420					425					430		
Lys	Lys	Ser	Ala	Ser	Asp	Leu	Thr	Trp	Asp	Asn	Leu	Lys	Gly	Lys	Lys
		435					440					445			
Ser	Cys	His	Thr	Ala	Val	Gly	Arg	Thr	Ala	Gly	Trp	Asn	Ile	Pro	Met
	450					455					460				
Gly	Leu	Leu	Tyr	Asn	Lys	Ile	Asn	His	Cys	Arg	Phe	Asp	Glu	Phe	Phe
465					470					475					480
Ser	Glu	Gly	Cys	Ala	Pro	Gly	Ser	Lys	Lys	Asp	Ser	Ser	Leu	Cys	Lys
				485					490					495	

Leu Cys Met Gly Ser Gly Leu Asn Leu Cys Glu Pro Asn Asn Lys Glu
 500 505 510
 Gly Tyr Tyr Gly Tyr Thr Gly Ala Phe Arg Cys Leu Val Glu Lys Gly
 515 520 525
 Asp Val Ala Phe Val Lys His Gln Thr Val Pro Gln Asn Thr Gly Gly
 530 535 540
 Lys Asn Pro Asp Pro Trp Ala Lys Asn Leu Asn Glu Lys Asp Tyr Glu
 545 550 555 560
 Leu Leu Cys Leu Asp Gly Thr Arg Lys Pro Val Glu Glu Tyr Ala Asn
 565 570 575
 Cys His Leu Ala Arg Ala Pro Asn His Ala Val Val Thr Arg Lys Asp
 580 585 590
 Lys Glu Ala Cys Val His Lys Ile Leu Arg Gln Gln Gln His Leu Phe
 595 600 605
 Gly Ser Asn Val Thr Asp Cys Ser Gly Asn Phe Cys Leu Phe Arg Ser
 610 615 620
 Glu Thr Lys Asp Leu Leu Phe Arg Asp Asp Thr Val Cys Leu Ala Lys
 625 630 635 640
 Leu His Asp Arg Asn Thr Tyr Glu Lys Tyr Leu Gly Glu Glu Tyr Val
 645 650 655
 Lys Ala Val Gly Asn Leu Arg Lys Cys Ser Thr Ser Ser Leu Leu Glu
 660 665 670
 Ala Cys Thr Phe Arg Arg Pro
 675
 <210> 123
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> 智人
 <400> 123
 Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
 1 5 10 15
 Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
 20 25 30
 Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
 35 40 45
 Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
 50 55 60
 Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
 65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly₈₅ Glu Met Ala Asp Cys₉₀ Cys Ala Lys Gln Glu₉₅ Pro
 Glu Arg Asn Glu₁₀₀ Cys Phe Leu Gln His₁₀₅ Lys Asp Asp Asn Pro₁₁₀ Asn Leu
 Pro Arg Leu₁₁₅ Val Arg Pro Glu Val₁₂₀ Asp Val Met Cys Thr₁₂₅ Ala Phe His
 Asp Asn₁₃₀ Glu Glu Thr Phe Leu₁₃₅ Lys Lys Tyr Leu Tyr₁₄₀ Glu Ile Ala Arg
 Arg₁₄₅ His Pro Tyr Phe Tyr₁₅₀ Ala Pro Glu Leu Leu₁₅₅ Phe Phe Ala Lys Arg₁₆₀
 Tyr Lys Ala Ala Phe₁₆₅ Thr Glu Cys Cys Gln₁₇₀ Ala Ala Asp Lys Ala₁₇₅ Ala
 Cys Leu Leu Pro₁₈₀ Lys Leu Asp Glu Leu₁₈₅ Arg Asp Glu Gly Lys₁₉₀ Ala Ser
 Ser Ala Lys₁₉₅ Gln Arg Leu Lys Cys₂₀₀ Ala Ser Leu Gln Lys₂₀₅ Phe Gly Glu
 Arg Ala₂₁₀ Phe Lys Ala Trp Ala₂₁₅ Val Ala Arg Leu Ser₂₂₀ Gln Arg Phe Pro
 Lys₂₂₅ Ala Glu Phe Ala Glu₂₃₀ Val Ser Lys Leu Val₂₃₅ Thr Asp Leu Thr Lys₂₄₀
 Val His Thr Glu Cys₂₄₅ Cys His Gly Asp Leu₂₅₀ Leu Glu Cys Ala Asp₂₅₅ Asp
 Arg Ala Asp Leu₂₆₀ Ala Lys Tyr Ile Cys₂₆₅ Glu Asn Gln Asp Ser₂₇₀ Ile Ser
 Ser Lys Leu₂₇₅ Lys Glu Cys Cys Glu₂₈₀ Lys Pro Leu Leu Glu₂₈₅ Lys Ser His
 Cys Ile₂₉₀ Ala Glu Val Glu Asn₂₉₅ Asp Glu Met Pro Ala₃₀₀ Asp Leu Pro Ser
 Leu₃₀₅ Ala Ala Asp Phe Val₃₁₀ Glu Ser Lys Asp Val₃₁₅ Cys Lys Asn Tyr Ala₃₂₀
 Glu Ala Lys Asp Val₃₂₅ Phe Leu Gly Met Phe₃₃₀ Leu Tyr Glu Tyr Ala₃₃₅ Arg
 Arg His Pro Asp₃₄₀ Tyr Ser Val Val Leu₃₄₅ Leu Leu Arg Leu Ala₃₅₀ Lys Thr
 Tyr Glu Thr₃₅₅ Thr Leu Glu Lys Cys₃₆₀ Cys Ala Ala Ala Asp₃₆₅ Pro His Glu
 Cys Tyr₃₇₀ Ala Lys Val Phe Asp₃₇₅ Glu Phe Lys Pro Leu₃₈₀ Val Glu Glu Pro

Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
385 390 395 400

Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
405 410 415

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 124
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人

<400> 124

Asp Val Leu Ala Gly Leu Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser
1 5 10 15

Lys Ser Glu Ile Ser Ser Leu Cys
20

<210> 125
<211> 27
<212> PRT
<213> 智人

<400> 125

Arg Ala Ala Pro Tyr Gly Val Arg Leu Cys Gly Arg Glu Phe Ile Arg
1 5 10 15

Ala Val Ile Phe Thr Cys Gly Gly Ser Arg Trp
20 25

<210> 126
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人

<400> 126

Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser Lys Ser Glu Ile Ser Ser Leu Cys
1 5 10 15

<210> 127
<211> 72
<212> DNA
<213> 智人

<400> 127
cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg 60
gcgcgctttt gc 72

<210> 128
<211> 48
<212> DNA
<213> 智人

<400> 128
aaatgctgcc atgtgggctg caccaaacgc agcctggcgc gcttttgc 48

<210> 129
<211> 84
<212> DNA
<213> 智人

<400> 129
agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc ggccgcgaac tggcgcgcgc gcagattgcg 60
atttgcggca tgagcacctg gagc 84

<210> 130
<211> 693
<212> DNA
<213> 智人

<400> 130
ccgaaagcgt gcgataaaac ccataacctgc ccgccgtgcc cggcgccgga actgctgggc 60
ggcccgagcg tgtttctgtt tccgccgaaa ccgaaagata ccctgatgat tagccgcacc 120
ccggaagtga cctgcgtggt ggtggatgtg agccatgaag atccggaagt gaaatttaac 180
tggtatgtgg atggcgtgga agtgcataac gcgaaaacca aaccgcgcga agaacagtat 240
aacagcacct atcgcgtggt gagcgtgctg accgtgctgc atcaggattg gctgaacggc 300
aaagaatata aatgcaaagt gagcaacaaa gcgctgccgg cgccgattga aaaaaccatt 360
agcaaagcga aaggccagcc gcgcgaaccg caggtgtata ccctgccgcc gagccgcgat 420
gaactgacca aaaaccaggt gagcctgacc tgccctggtga aaggctttta tccgagcgat 480
attgcggtgg aatgggaaag caacggccag ccgaaaaaca actataaaac caccgcccg 540
gtgctggata gcgatggcag cttttttctg tatagcaaac tgaccgtgga taaaagccgc 600

tggcagcagg gcaacgtgtt tagctgcagc gtgatgcatg aagcgctgca taaccattat 660
 acccagaaaa gcctgagcct gagcccgggc aaa 693

<210> 131
 <211> 678
 <212> DNA
 <213> 褐鼠

<400> 131
 acctgcccga cctgccataa atgcccgggtg ccggaactgc tgggcggccc gagcgtgttt 60
 atttttccgc cgaaaccgaa agatattctg ctgattagcc agaacgcgaa agtgacctgc 120
 gtggtggtgg atgtgagcga agaagaaccg gatgtgcagt ttagctggtt tgtgaacaac 180
 gtggaagtgc ataccgcgca gaccagccg cgcgaagaac agtataacag cacctttcgc 240
 gtggtgagcg cgctgccgat tcagcatcag gattggatga gcggcaaaga atttaaattgc 300
 aaagtgaaca acaaagcgct gccgagcccg attgaaaaaa ccattagcaa accgaaaggc 360
 ctggtgcgca aaccgcagggt gtatgtgatg ggcccggcga ccgaacagct gaccgaacag 420
 accgtgagcc tgacctgcct gaccagcggc tttctgccga acgatattgg cgtggaatgg 480
 accagcaacg gccatattga aaaaaactat aaaaacaccg aaccgggtgat ggatagcgat 540
 ggcagctttt ttatgtatag caaactgaac gtggaacgca gccgctggga tagccgcgcg 600
 ccgtttgtgt gcagcgtggt gcatgaaggc ctgcataacc atcatgtgga aaaaagcatt 660
 agccgcccgc cgggcaaa 678

<210> 132
 <211> 2037
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 132
 gtgccggata aaaccgtgcg ctggtgcgcg gtgagcgaac atgaagcgac caaatgccag 60
 agctttcgcg atcatatgaa aagcgtgatt ccgagcgatg gcccagcgt ggctgctgtg 120
 aaaaaagcga gctatctgga ttgcattcgc gcgattgcgg cgaacgaagc ggatgcgggtg 180
 accctggatg cgggcctggt gtatgatgcg tatctggcgc cgaacaacct gaaaccgggtg 240
 gtggcggaat tttatggcag caaagaagat ccgcagacct tttattatgc ggtggcgggtg 300
 gtgaaaaaag atagcggctt tcagatgaac cagctgcgcg gcaaaaaaag ctgccatacc 360
 ggccctgggcc gcagcgcggg ctggaacatt ccgattggcc tgctgtattg cgatctgccg 420
 gaaccgcgca aaccgctgga aaaagcgggtg gcgaactttt ttagcggcag ctgcgcgccg 480
 tgcgcggatg gcaccgattt tccgcagctg tgccagctgt gcccgggctg cggctgcagc 540
 accctgaacc agtatitttg ctatagcggc gcgtttaaat gcctgaaaga tggcgcgggc 600
 gatgtggcgt ttgtgaaaca tagcaccatt tttgaaaacc tggcgaacaa agcggatcgc 660
 gatcagtatg aactgctgtg cctggataac acccgcaaac cgggtggatga atataaagat 720
 tgccatctgg cgcagggtgcc gagccatacc gtggtggcgc gcagcatggg cggcaaagaa 780
 gatctgattt gggaactgct gaaccaggcg caggaaacatt ttggcaaaga taaaagcaaa 840
 gaatttcagc tgtttagcag cccgcatggc aaagatctgc tgtttaaaga tagcgcgcat 900
 ggctttctga aagtgccgcc gcgcatggat gcgaaaatgt atctgggcta tgaatatgtg 960

accgcgattc gcaacctgcg cgaaggcacc tgcccgggaag cgccgaccga tgaatgcaaa	1020
ccggtgaaat ggtgcgcgct gagccatcat gaacgcctga aatgcgatga atggagcgtg	1080
aacagcgtgg gcaaaattga atgcgtgagc gcggaaacca ccgaagattg cattgcgaaa	1140
attatgaacg gcgaagcgga tgcgatgagc ctggatggcg gctttgtgta tattgcgggc	1200
aaatgcggcc tgggtgccgtt gctggcggaa aactataaca aaagcgataa ctgcgaagat	1260
accccggaag cgggctatatt tgcgggtggcg gtggtgaaaa aaagcgcgag cgatctgacc	1320
tgggataacc tgaaaggcaa aaaaagctgc cataccgcgg tgggccgcac cgcgggctgg	1380
aacattccga tgggcctgct gtataacaaa attaaccatt gccgctttga tgaatTTTTT	1440
agcgaaggct gcgcgccggg cagcaaaaaa gatagcagcc tgtgcaaaact gtgcatgggc	1500
agcggcctga acctgtgcga accgaacaac aaagaaggct attatggcta taccggcgcg	1560
tttcgctgcc tgggtgaaaa aggcgatgtg gcgtttgtga aacatcagac cgtgccgcag	1620
aacaccggcg gcaaaaaccc ggatccgttg gcgaaaaacc tgaacgaaaa agattatgaa	1680
ctgctgtgcc tggatggcac ccgcaaaccg gtggaagaat atgcgaactg ccatctggcg	1740
cgcgcccgga accatgcggt ggtgaccgc aaagataaag aagcgtgcgt gcataaaatt	1800
ctgcgccagc agcagcatct gtttggcagc aacgtgaccg attgcagcg caacttttgc	1860
ctgtttcgca gcgaaaccaa agatctgctg tttcgcgatg ataccgtgtg cctggcgaaa	1920
ctgcatgac gcaacaccta tgaaaaaatat ctgggcgaag aatatgtgaa agcgggtgggc	1980
aacctgcgca aatgcagcac cagcagcctg ctggaagcgt gcacctttcg ccgcccg	2037

<210> 133
 <211> 1755
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 133	
gatgcgcata aaagcgaagt ggcgcatcgc tttaaagatc tgggcgaaga aaacttttaa	60
gcgctggtgc tgattgcgtt tgcgcagtat ctgcagcagt gcccgtttga agatcatgtg	120
aaactggtga acgaagtgc cgaattttgcg aaaacctgcg tggcgatga aagcgcggaa	180
aactgcgata aaagcctgca taccctgttt ggcgataaac tgtgcaccgt ggcgaccctg	240
cgcgaaacct atggcgaaat ggcggtatgc tgcgcgaaac aggaaccgga acgcaacgaa	300
tgctttctgc agcataaaga tgataaccgc aacctgccgc gcctgggtgcg cccggaagtg	360
gatgtgatgt gcaccgcgtt tcatgataac gaagaaacct ttctgaaaaa atatctgtat	420
gaaattgcgc gccgccatcc gtatttttat gcgccggaac tgctgttttt tgcgaaacgc	480
tataaagcgg cgtttaccga atgctgccag gcggcgata aagcggcgtg cctgctgccg	540
aaactggatg aactgcgcga tgaaggcaaa gcgagcagcg cgaaacagcg cctgaaatgc	600
gcgagcctgc agaaatttgg cgaacgcgcg tttaaagcgt gggcggtggc gcgcctgagc	660
cagcgctttc cgaaagcgga atttgcggaa gtgagcaaac tggtgaccga tctgacaaaa	720
gtgcataacc aatgctgcc tggcgatctg ctggaatgcg cggtatgatc gcggatctg	780
gcgaaatata tttgcgaaaa ccaggatagc attagcagca aactgaaaga atgctgcgaa	840
aaaccgctgc tggaaaaaag ccattgcatt gcggaagtgg aaaacgatga aatgccggcg	900
gatctgccga gcctggcggc ggattttgtg gaaagcaaag atgtgtgcaa aaactatgcg	960

gaagcgaaag atgtgtttct gggcatgttt ctgtatgaat atgcgcgccg ccatccggat 1020
tatagcgtgg tgctgctgct gcgcctggcg aaaacctatg aaaccaccct ggaaaaatgc 1080
tgcgcggcgg cgatccgca tgaatgctat gcgaaagtgt ttgatgaatt taaaccgctg 1140
gtggaagaac cgcagaacct gattaaacag aactgcgaac tgtttgaaca gctgggcgaa 1200
tataaat ttc agaacgcgct gctggtgcgc tataccaaaa aagtgccgca ggtgagcacc 1260
ccgaccctgg tggaagtgag ccgcaacctg ggcaaagtgg gcagcaaatg ctgcaaacat 1320
ccggaagcga aacgcatgcc gtgcgcggaa gattatctga gcgtggtgct gaaccagctg 1380
tgcgtgctgc atgaaaaaac cccggtgagc gatcgcgtga ccaaatgctg caccgaaagc 1440
ctggtgaacc gccgccctg ctttagcgcg ctggaagtgg atgaaaccta tgtgccgaaa 1500
gaatttaacg cggaaacctt tacctttcat gcggatattt gcaccctgag cgaaaaagaa 1560
cgccagatta aaaaacagac cgcgctggtg gaactggtga aacataaacc gaaagcgacc 1620
aaagaacagc tgaaagcggg gatggatgat ttigcggcgt ttgtggaaaa atgctgcaaa 1680
gcggatgata aagaaacctg ctttgcggaa gaaggcaaaa aactggtggc ggcgagccag 1740
gcggcgctgg gcctg 1755

<210> 134
<211> 72
<212> DNA
<213> 智人

<400> 134
gatgtgctgg cgggcctgag cagcagctgc tgcaaatggg gctgcagcaa aagcgaaatt 60
agcagcctgt gc 72

<210> 135
<211> 81
<212> DNA
<213> 智人

<400> 135
cgcgcggcgc cgtatggcgt gcgcctgtgc ggccgcgaat ttattcgcgc ggtgat tttt 60
acctgcggcg gcagccgctg g 81

<210> 136
<211> 45
<212> DNA
<213> 智人

<400> 136
tgctgcaaat ggggctgcag caaaagcgaa attagcagcc tgtgc 45

<210> 137
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 137
Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1 5

<210> 138

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 138

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5

<210> 139
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 139

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5

<210> 140
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 141
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 141

Gly Gly Gly Ser Gly Cys Gly Gly Ser Gly
1 5 10

<210> 142
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 142

Gly Gly Gly Ser Gly Lys Gly Gly Ser Gly
1 5 10

<210> 143
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 143

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
1 5 10

<210> 144

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 144

Lys Arg Ser Leu Ser Arg Lys Lys Arg
1 5

<210> 145

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 145

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10

<210> 146

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 146

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
1 5 10

<210> 147

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 147

Ile Glu Gly Arg Met Asp
1 5

<210> 148

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 148

Gly Gly Ser Pro

1

<210> 149
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 149

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro
1 5

<210> 150
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 150

Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Pro
1 5 10

<210> 151
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 151

Gly Ser Gly Ser Gly Ser
1 5

<210> 152
<211> 71
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 152

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Ser Trp Met Glu Glu Val
1 5 10 15

Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys
20 25 30

Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gln
35 40 45

Leu Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys
50 55 60

Arg Ser Leu Ala Arg Phe Cys
65 70

<210> 153
<211> 71
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 153
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Asp Val Leu Ala Gly Leu
1 5 10 15
Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser Lys Ser Glu Ile Ser Ser
20 25 30
Leu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Ser Trp Met Glu Glu
35 40 45
Val Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile
50 55 60
Cys Gly Met Ser Thr Trp Ser
65 70

<210> 154
<211> 71
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 154
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Ser Trp Met Glu Glu Val
1 5 10 15
Ile Lys Leu Cys Gly Arg Glu Leu Val Arg Ala Gln Ile Ala Ile Cys
20 25 30
Gly Met Ser Thr Trp Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Asp
35 40 45
Val Leu Ala Gly Leu Ser Ser Ser Cys Cys Lys Trp Gly Cys Ser Lys
50 55 60
Ser Glu Ile Ser Ser Leu Cys
65 70

<210> 155
<211> 70
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 155
Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Gln Leu Tyr Ser Ala Leu
1 5 10 15
Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg Ser Leu Ala Arg

20

25

30

Phe Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Arg Ala Ala Pro Tyr
35 40 45
Gly Val Arg Leu Cys Gly Arg Glu Phe Ile Arg Ala Val Ile Phe Thr
50 55 60
Cys Gly Gly Ser Arg Trp
65 70

<210> 156
<211> 70
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合多肽

<400> 156

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu Arg Ala Ala Pro Tyr Gly
1 5 10 15
Val Arg Leu Cys Gly Arg Glu Phe Ile Arg Ala Val Ile Phe Thr Cys
20 25 30
Gly Gly Ser Arg Trp Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gln Leu
35 40 45
Tyr Ser Ala Leu Ala Asn Lys Cys Cys His Val Gly Cys Thr Lys Arg
50 55 60
Ser Leu Ala Arg Phe Cys
65 70

<210> 157
<211> 213
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合體

<400> 157

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc 60
ggccgcgaac tgggtgcgcgc gcagattgcg atttgcggca tgagcacctg gagcggcggc 120
ggcagcggcg gcggcagcgg ccagctgtat agcgcgctgg cgaacaaatg ctgccatgtg 180
ggctgcacca aacgcagcct ggcgcgcttt tgc 213

<210> 158
<211> 213
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 鬆弛素融合體

<400> 158

gaacagaaac tgattagcga agaagatctg gatgtgctgg cgggcctgag cagcagctgc 60
tgcaaattggg gctgcagcaa aagcgaaatt agcagcctgt gcggcggcgg cagcggcggc 120

ggcagcggca gctggatgga agaagtgatt aaactgtgcg gccgcgaact ggtgcgcgcg	180
cagattgcga ttitcgggcat gagcacctgg agc	213
<210> 159	
<211> 213	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 鬆弛素融合體	
<400> 159	
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg agctggatgg aagaagtgat taaactgtgc	60
ggccgcgaac tggatgcgcgc gcagattgcg attitcgggca tgagcacctg gagcggcggc	120
ggcagcggcg gcggcagcgg cgatgtgctg gcgggcctga gcagcagctg ctgcaaatgg	180
ggctgcagca aaagcgaaat tagcagcctg tgc	213
<210> 160	
<211> 210	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 鬆弛素融合體	
<400> 160	
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cagctgtata gcgcgctggc gaacaaatgc	60
tgccatgtgg gctgcaccaa acgcagcctg gcgcgctttt gcggcggcgg cagcggcggc	120
ggcagcggcc gcgcggcgcc gtatggcgtg cgctgtgctg gccgcgaatt tattcgcgcg	180
gtgatttttta cctgcggcgg cagccgctgg	210
<210> 161	
<211> 210	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 鬆弛素融合體	
<400> 161	
gaacagaaac tgattagcga agaagatctg cgcgcggcgc cgtatggcgt gcgcctgtgc	60
ggccgcgaat ttattcgcgc ggtgattttt acctgcggcg gcagccgctg gggcggcggc	120
agcggcggcg gcagcggcca gctgtatagc gcgctggcga acaaatgctg ccatgtgggc	180
tgcaccaaac gcagcctggc gcgcttttgc	210

七、申請專利範圍：

1. 一種融合多肽，其具有包含 A-L-B 之鬆弛素活性，
其中
B 包含鬆弛素 B 鏈多肽或其功能性變異體，
A 包含鬆弛素 A 鏈多肽或其功能性變異體，及
L 係連接子多肽。
2. 根據申請專利範圍第 1 項之融合多肽，其中該融合多肽進一步包含至少一個半衰期延長之基團。
3. 根據申請專利範圍第 2 項之融合多肽，其中半衰期延長之基團為 IgG1 Fc 功能區、PEG 或 HES。
4. 根據前述申請專利範圍中任一項之融合多肽，其中該連接子多肽 L 為 6 至 14 個胺基酸長。
5. 根據前述申請專利範圍中任一項之融合多肽，其中該鬆弛素 A 鏈為人類鬆弛素 2 A 鏈(SEQ ID NO: 117) 及鬆弛素 B 鏈為人類鬆弛素 2 B 鏈(SEQ ID NO: 119)。
6. 一種融合多肽，其包含如表 3 所述之多肽。
7. 根據申請專利範圍第 1 至 6 項中任一項之融合多肽，其中 A-L-B 係選自由 scR3、scR4、scR5、無標記 scR3、無標記 scR4、無標記 scR5、scR-Fc5、scR-Fc6 與 scR-Fc7 組成之 A-L-B 多肽組群。
8. 一種多核苷酸，其編碼根據前述申請專利範圍中任一項之融合多肽。

9. 一種載體，其包含根據申請專利範圍第 8 項之多核苷酸。
10. 一種宿主細胞，其包含根據申請專利範圍第 9 項之載體或根據申請專利範圍第 8 項之多核苷酸。
11. 一種製造根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之多肽之方法，其包括培養如申請專利範圍第 10 項之宿主細胞及單離該多肽之步驟。
12. 一種醫藥組成物，其包含根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之融合多肽。
13. 根據申請專利範圍第 12 項之醫藥組成物或根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之融合多肽，其係作為藥劑。
14. 根據申請專利範圍第 12 及 13 項之醫藥組成物或根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之融合多肽，其係作為藥劑用以治療心血管疾病、肺部疾病、纖維化病症或腎臟疾病。
15. 一種治療心血管疾病、肺部疾病、纖維化病症或腎臟疾病之方法，其包括投與有效治療劑量之根據申請專利範圍第 12 及 13 項之醫藥組成物或根據申請專利範圍第 1 至 7 項中任一項之融合多肽。
16. 根據申請專利範圍第 14 及 15 項之治療方法，其中該心血管疾病係冠心病、急性冠狀動脈症候群、心臟衰竭、與心肌梗塞。

圖 1

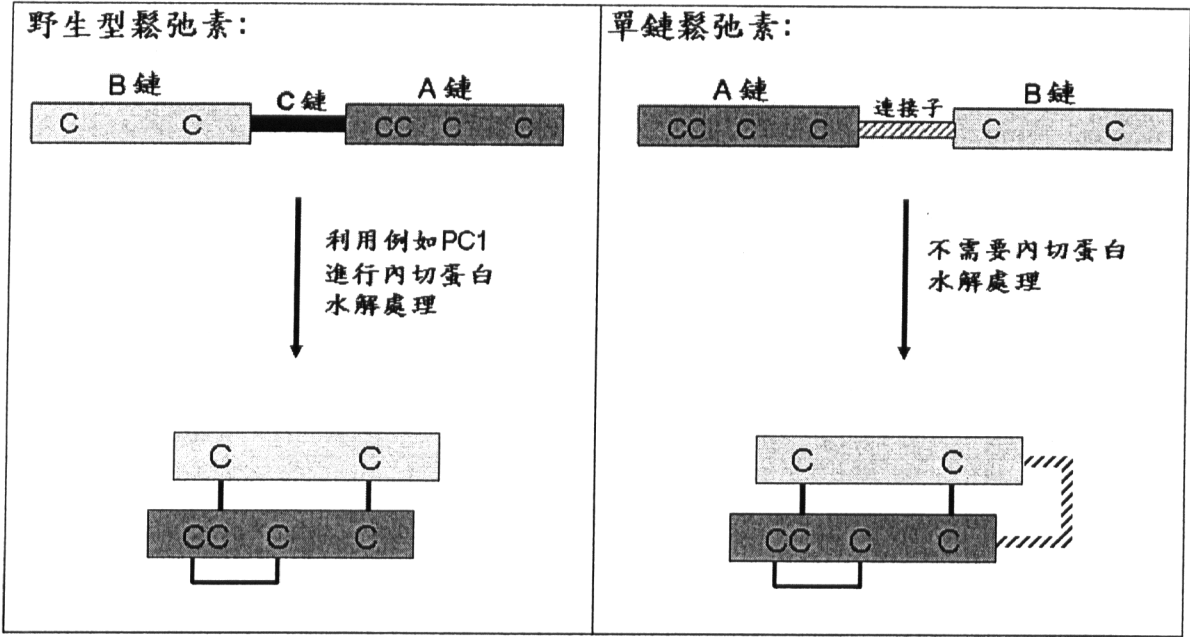


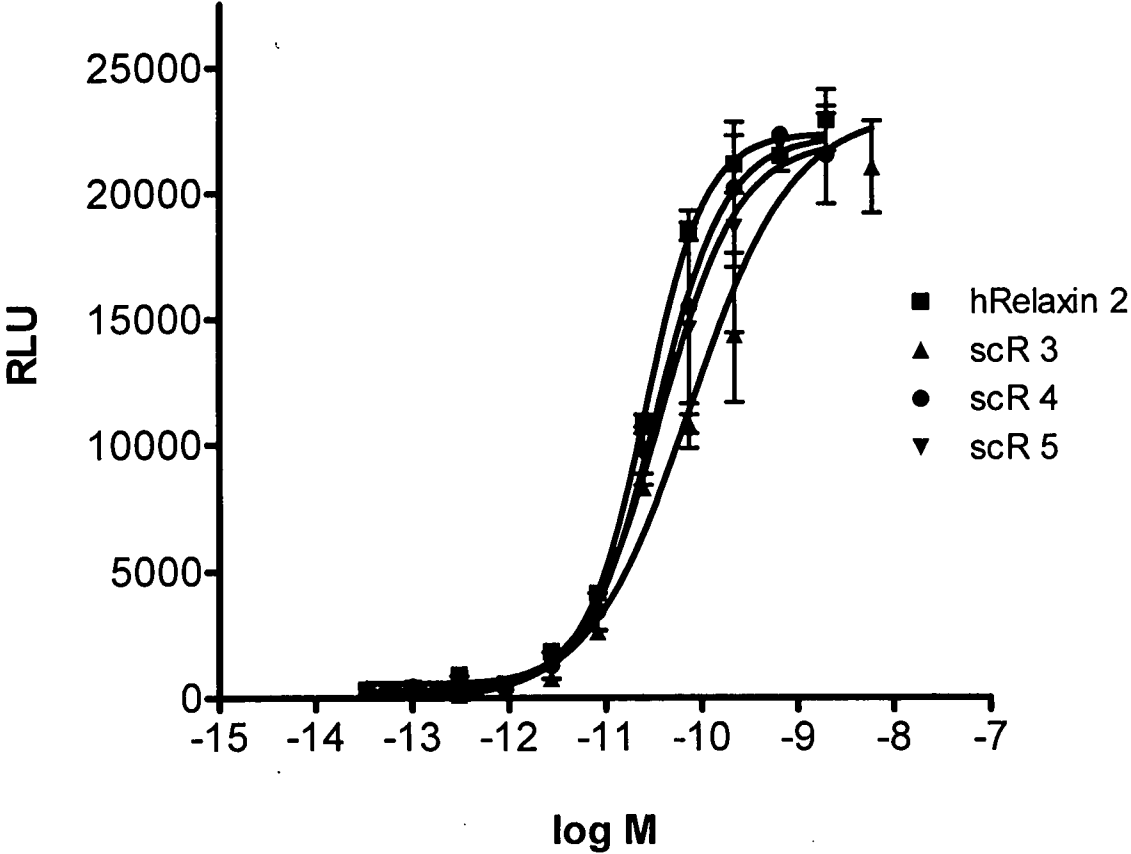
圖 2

轉植株	建構體
hRelaxin 2	B C A
scR1	Myc A 3aaG B FXa HA His
scR2	Myc A 5aaGS B FXa HA His
scR3	Myc A 7aaGS B FXa HA His
scR4	Myc A 9aaGS B FXa HA His
scR5	Myc A 11aaGS B FXa HA His
scR6	Myc A 15aaGS B FXa HA His
scR7	Myc A 6aaGS B
scR8	Myc A 12aaGS B
scR9	Myc A 13aaGS B
scR10	Myc A 14aaGS B
scR11	A 9aaGS + C B
scR12	A 9aaGS + K B
scR13	A 短連接子 B
scR14	A_(RLN3) 9aaGS B_(RLN3)
scR15	Myc A_(RLN3) 9aaGS B_(RLN3)
scR16	Myc B_(RLN2) 9aaGS A_(RLN2)
scR17	Myc A_(RLN3) 9aaGS B_(RLN2)
scR18	Myc B_(RLN2) 9aaGS A_(RLN3)
scR19	Myc A_(RLN2) 9aaGS B_(RLN3)
scR20	Myc B_(RLN3) 9aaGS A_(RLN2)

圖 3

轉殖株	建構體
鬆弛素 Fc	B C A FXa hlgG1 Fc
scR-Fc 1	Myc A 9aaGS B FXa hlgG1 Fc
scR-Fc 2	A 9aaGS B GGSP hlgG1 Fc
scR-Fc 3	A 9aaGS B (GS) ₃ P hlgG1 Fc
scR-Fc 4	A 9aaGS B (GS) ₃ P hlgG1 Fc
scR-Fc 5	hlgG1 Fc GGSP A 9aaGS B
scR-Fc 6	hlgG1 Fc (GS) ₃ P A 9aaGS B
scR-Fc 7	hlgG1 Fc (GS) ₃ P A 9aaGS B
scR-Fc 8	A 9aaGS B GGSP rlgG2b Fc 6 X His
scR-Fc 9	A 9aaGS B (GS) ₃ P rlgG2b Fc 6 X His
scR-Fc 10	A 9aaGS B (GS) ₃ P rlgG2b Fc 6 X His
scR-Fc 11	6 X His rlgG2b Fc GGSP A 9aaGS B
scR-Fc 12	6 X His rlgG2b Fc (GS) ₃ P A 9aaGS B
scR-Fc 13	6 X His rlgG2b Fc (GS) ₃ P A 9aaGS B
scR-Fc 14	A 9aaGS B hlgG1 Fc
scR-Fc 15	A 9aaGS B (GS) ₃ hlgG1 Fc
scR-Fc 16	A 9aaGS B (GS) ₃ C del. hlgG1 Fc
scR-Fc 17	A 9aaGS B (GS) ₃ rlgG2b Fc
scR-Fc 18	A 9aaGS B 連接子 hlgG1 Fc
scR-Var1	A 9aaGS B PEG連接子
scR-Var2	PEG連接子 A 9aaGS B
scR-Var3	轉鐵蛋白 FXa A 9aaGS B
scR-Var4	轉鐵蛋白 FXa B C A
scR-Var5	白蛋白 FXa A 9aaGS B
scR-Var6	白蛋白 FXa B C A
scR-Var7	A 連接子 B FXa hlgG1 Fc
scR-Var8	hlgG1 Fc FXa A 連接子 B

圖 4a



	hRelaxin 2	scR 3	scR 4	scR 5
EC50	2.630e-011	7.769e-011	3.390e-011	3.721e-011

圖 4b

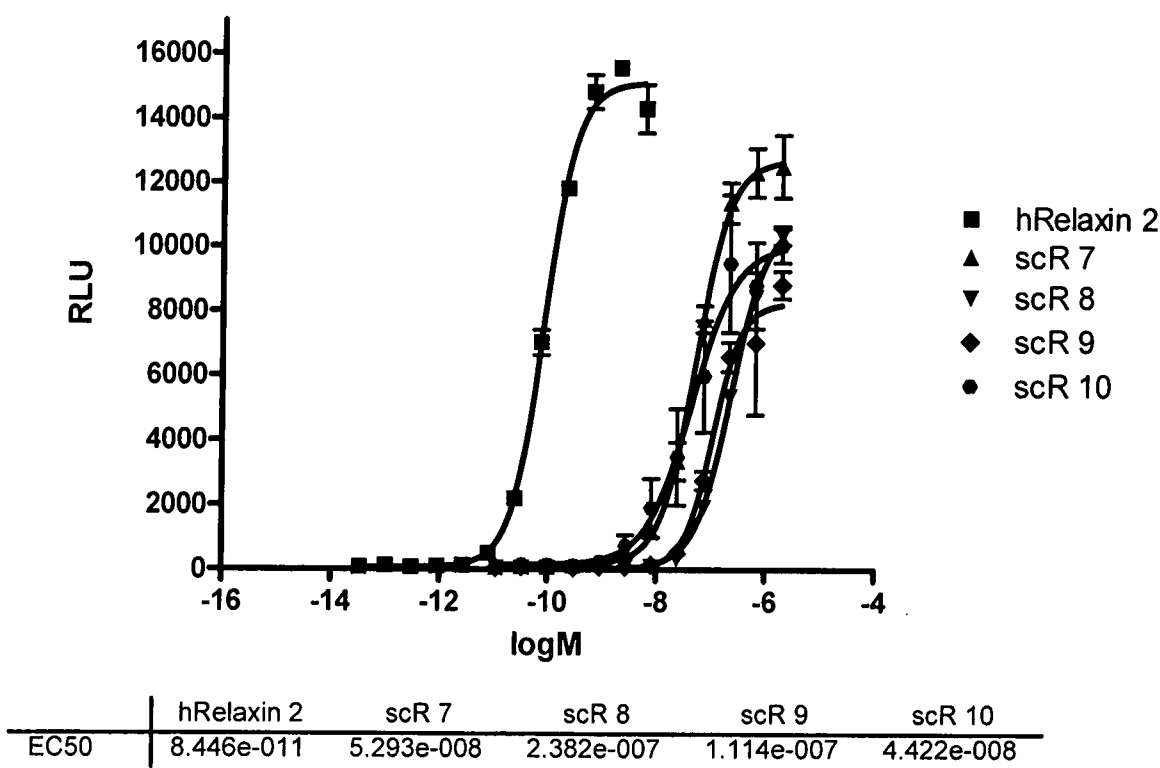
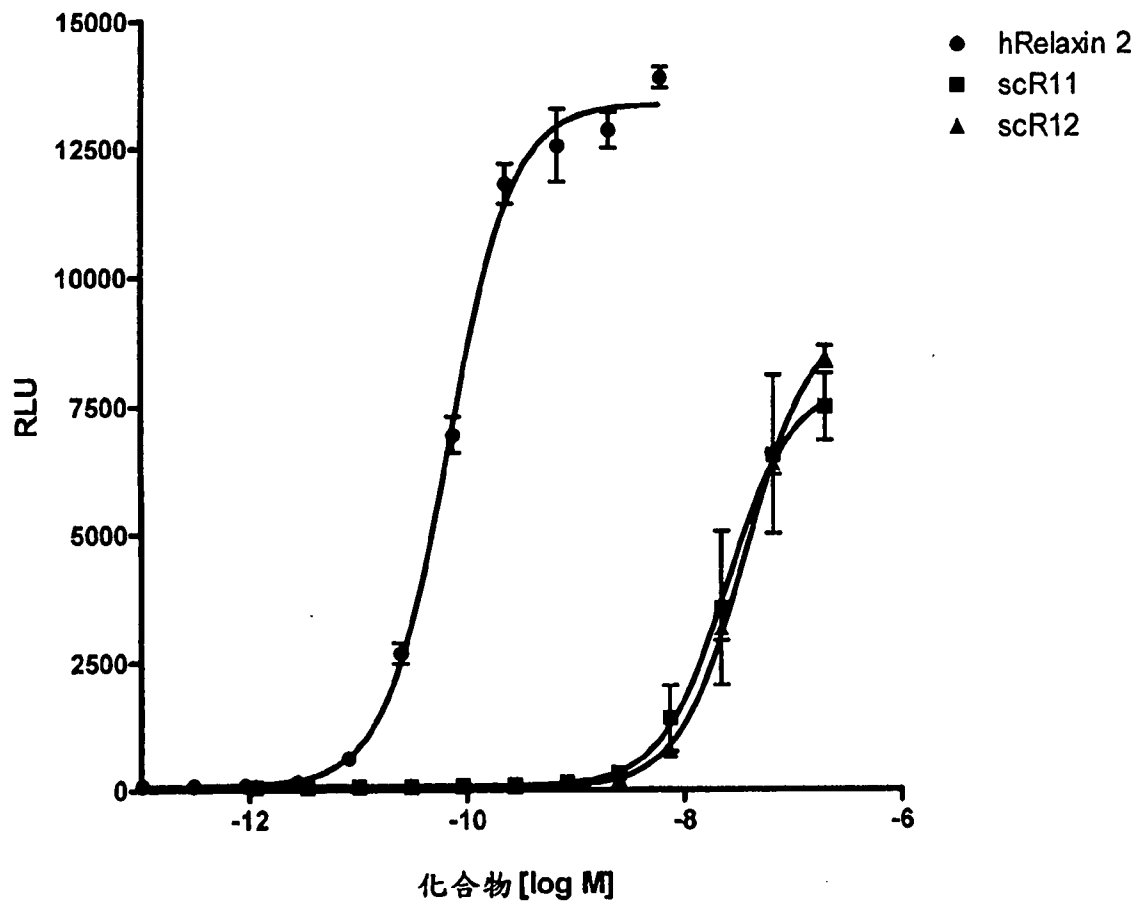
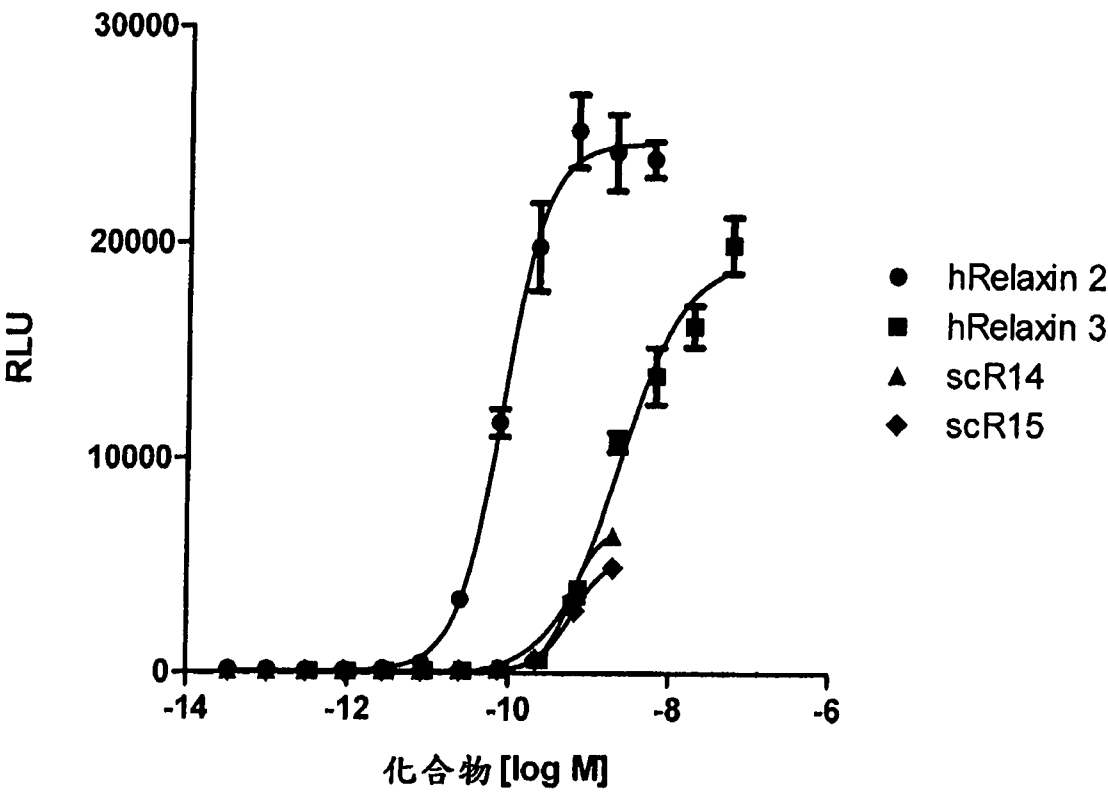


圖 4c



	hRelaxin 2	scR11	scR12
EC50	6.746e-011	2.469e-008	3.640e-008

圖 4d



	hRelaxin 2	hRelaxin 3	scR14	scR15
EC50	8.104e-011	2.297e-009	5.891e-010	6.185e-010

圖 4e

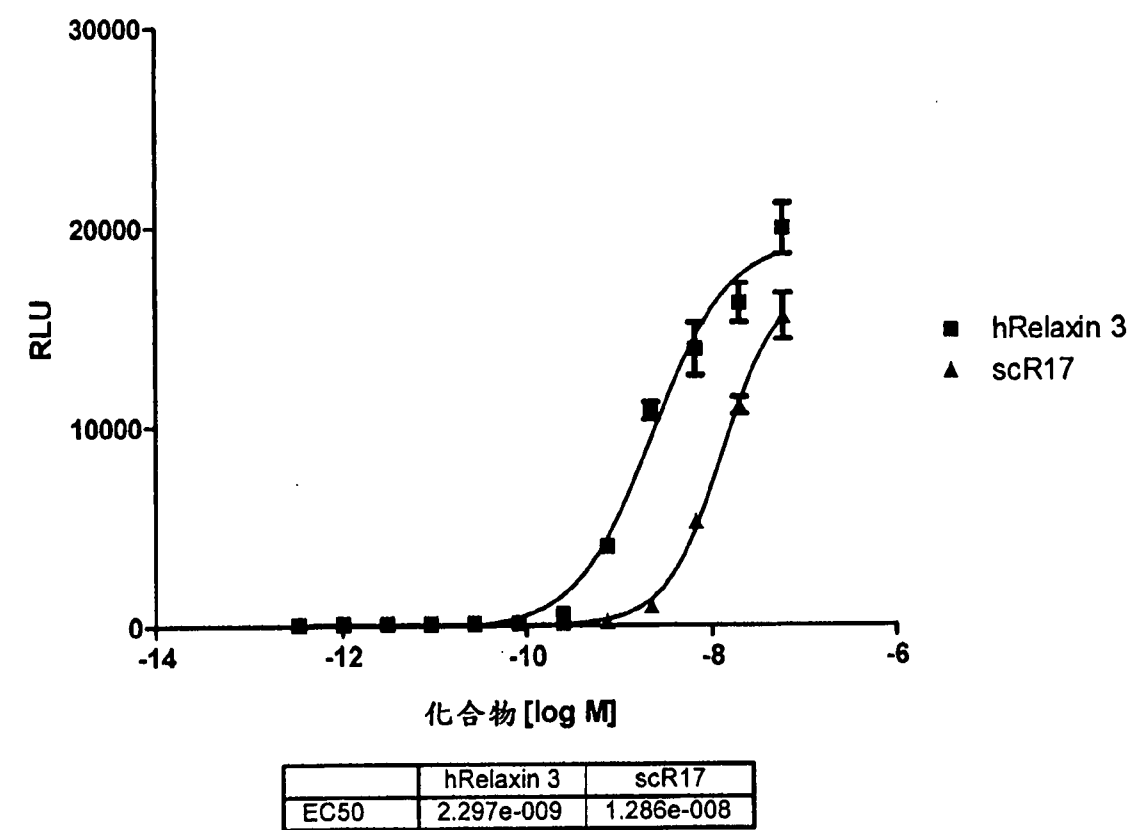


圖 5

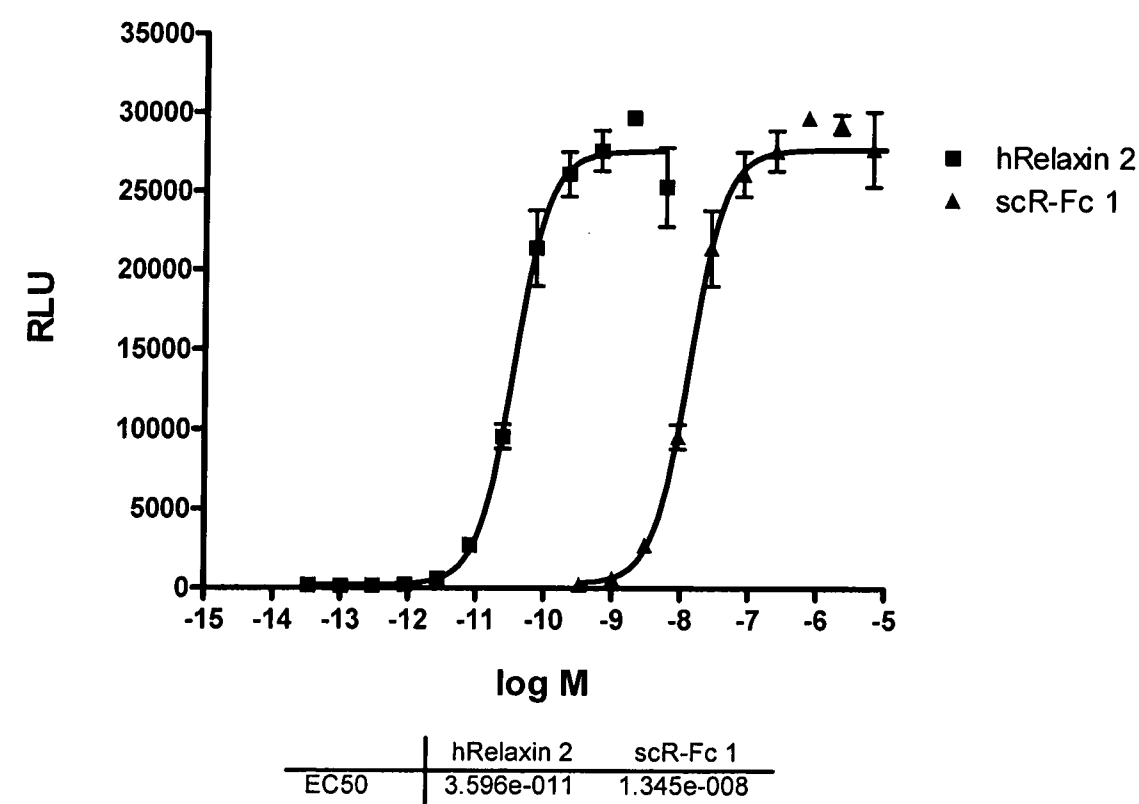
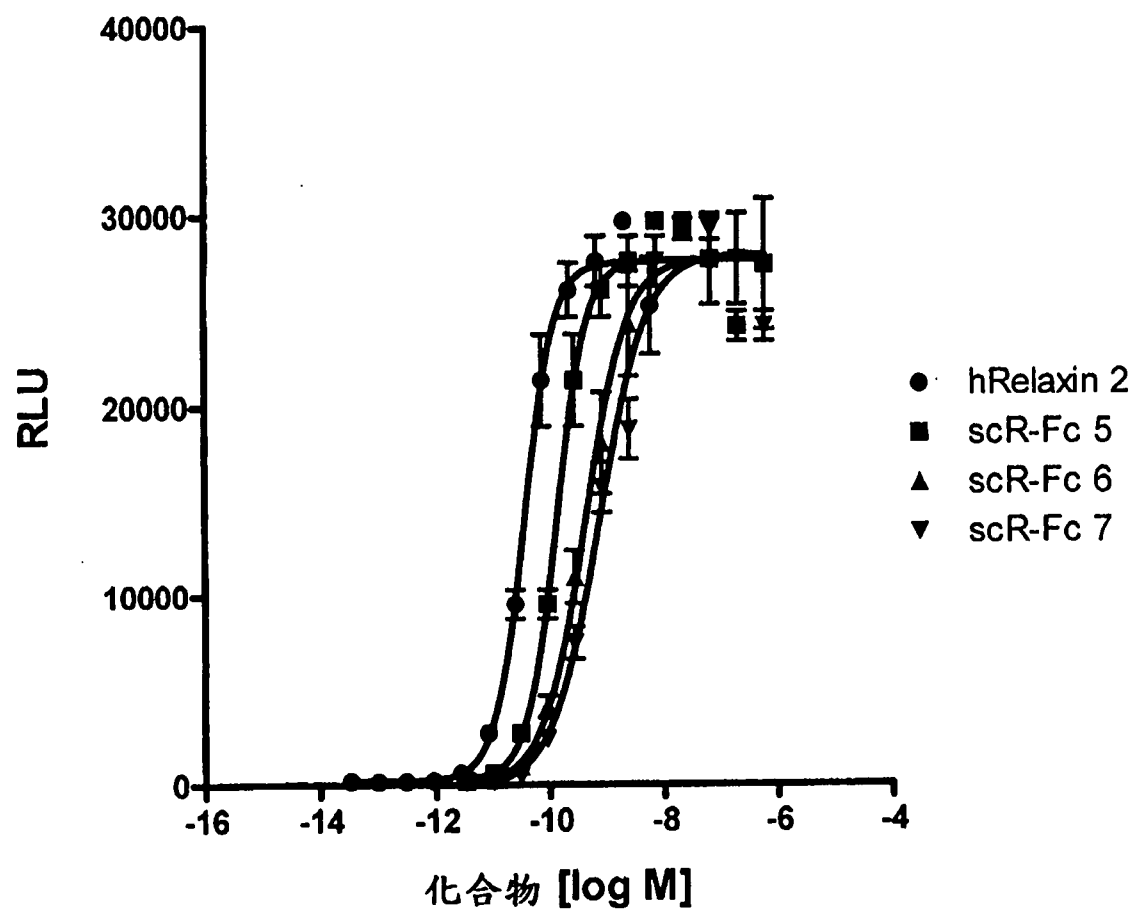
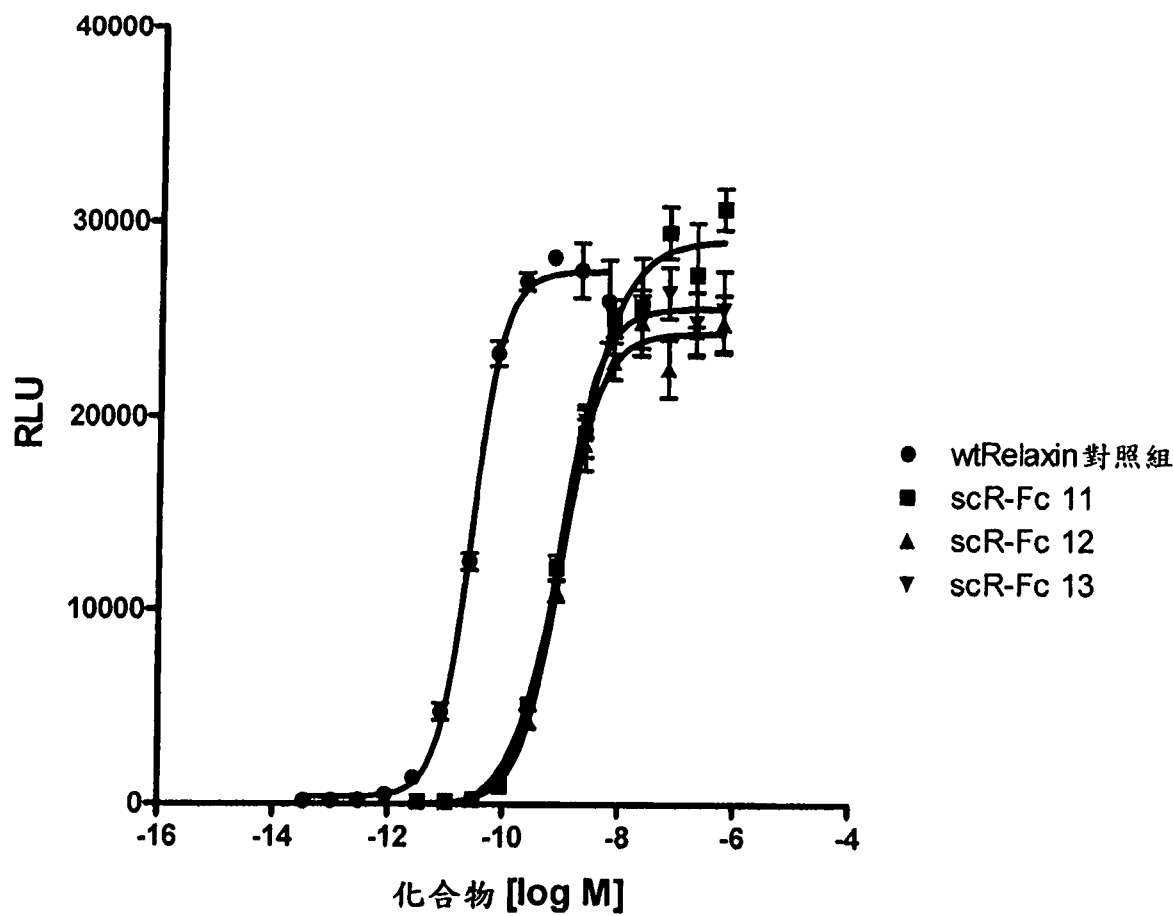


圖 6



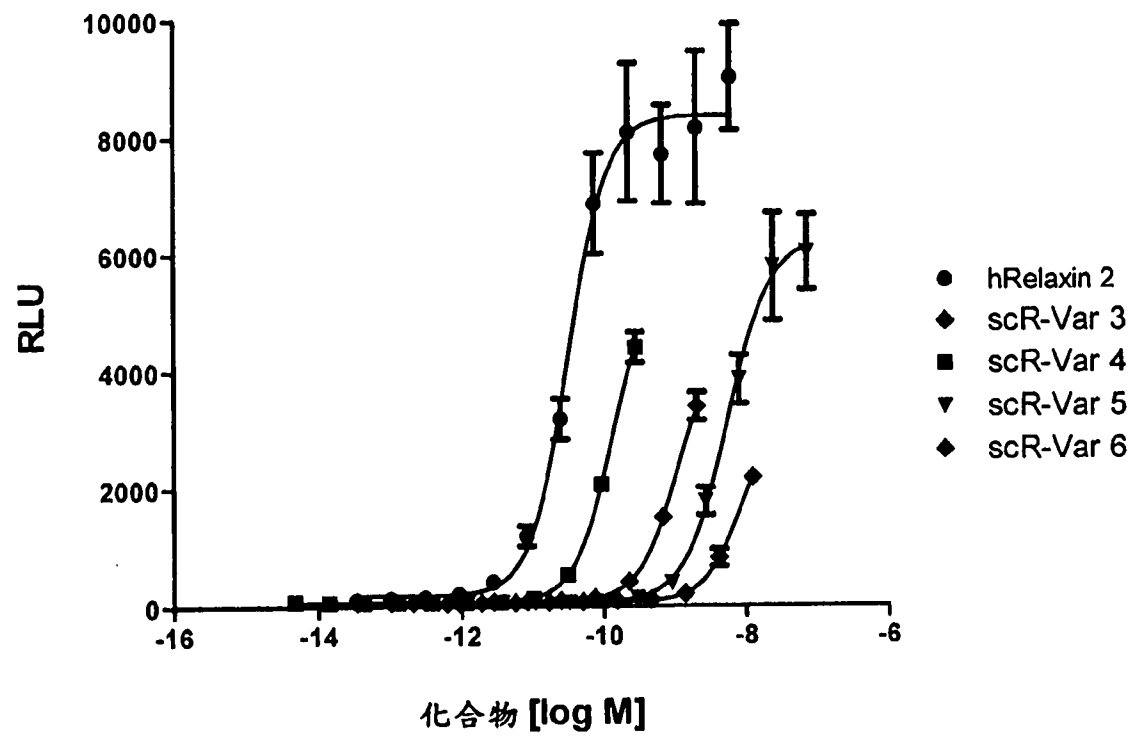
	hRelaxin 2	scR-Fc 5	scR-Fc 6	scR-Fc 7
EC50	3.595e-011	1.346e-010	4.232e-010	7.411e-010

圖 7



	wtRelaxin 對照組	scR-Fc 11	scR-Fc 12	scR-Fc 13
EC50	2.664e-011	1.204e-009	9.530e-010	8.953e-010

圖 8



	hRelaxin 2	scR-Var 3	scR-Var 4	scR-Var 5	scR-Var 6
EC50	3.243e-011	1.119e-009	1.305e-010	5.508e-009	8.368e-009

圖 9

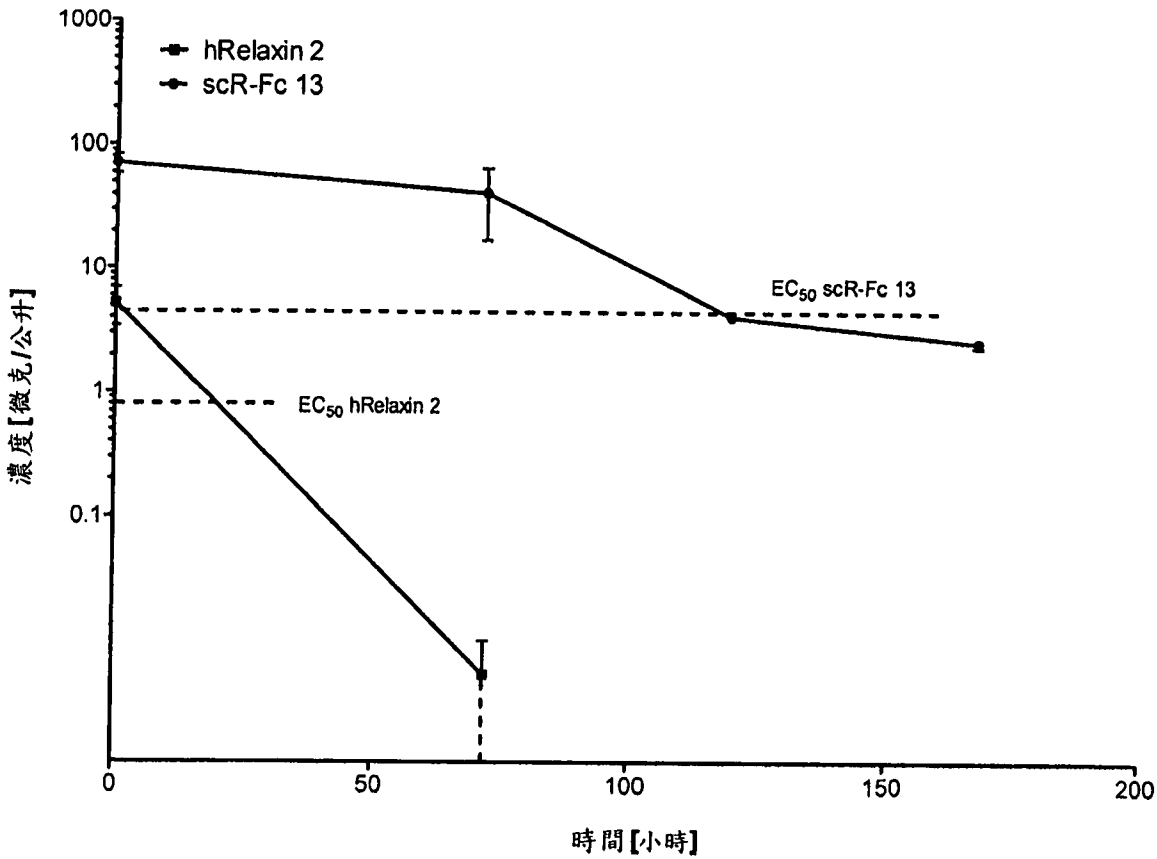


圖 10

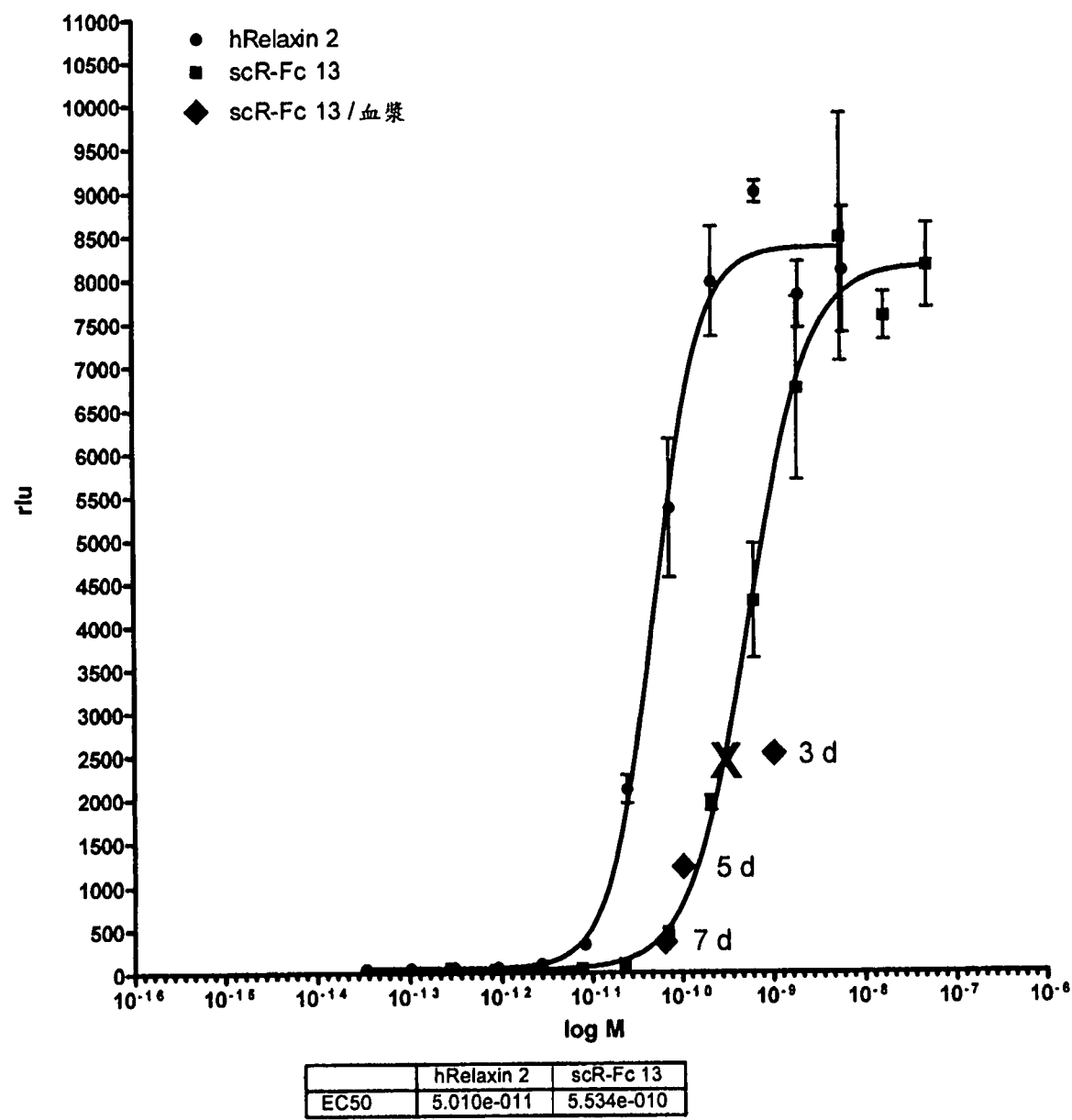


圖 11 a 與 b

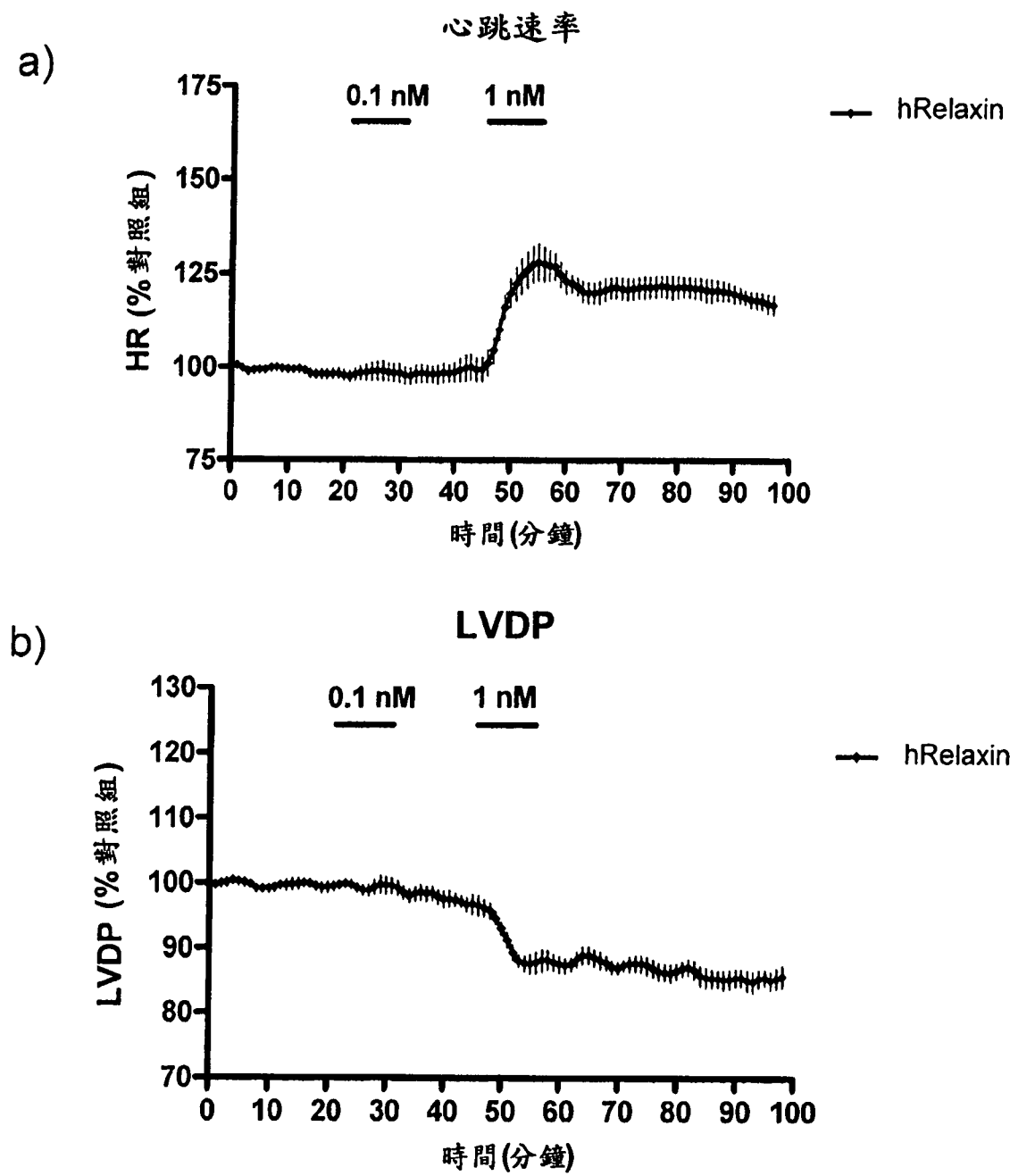


圖 11 c 與 d

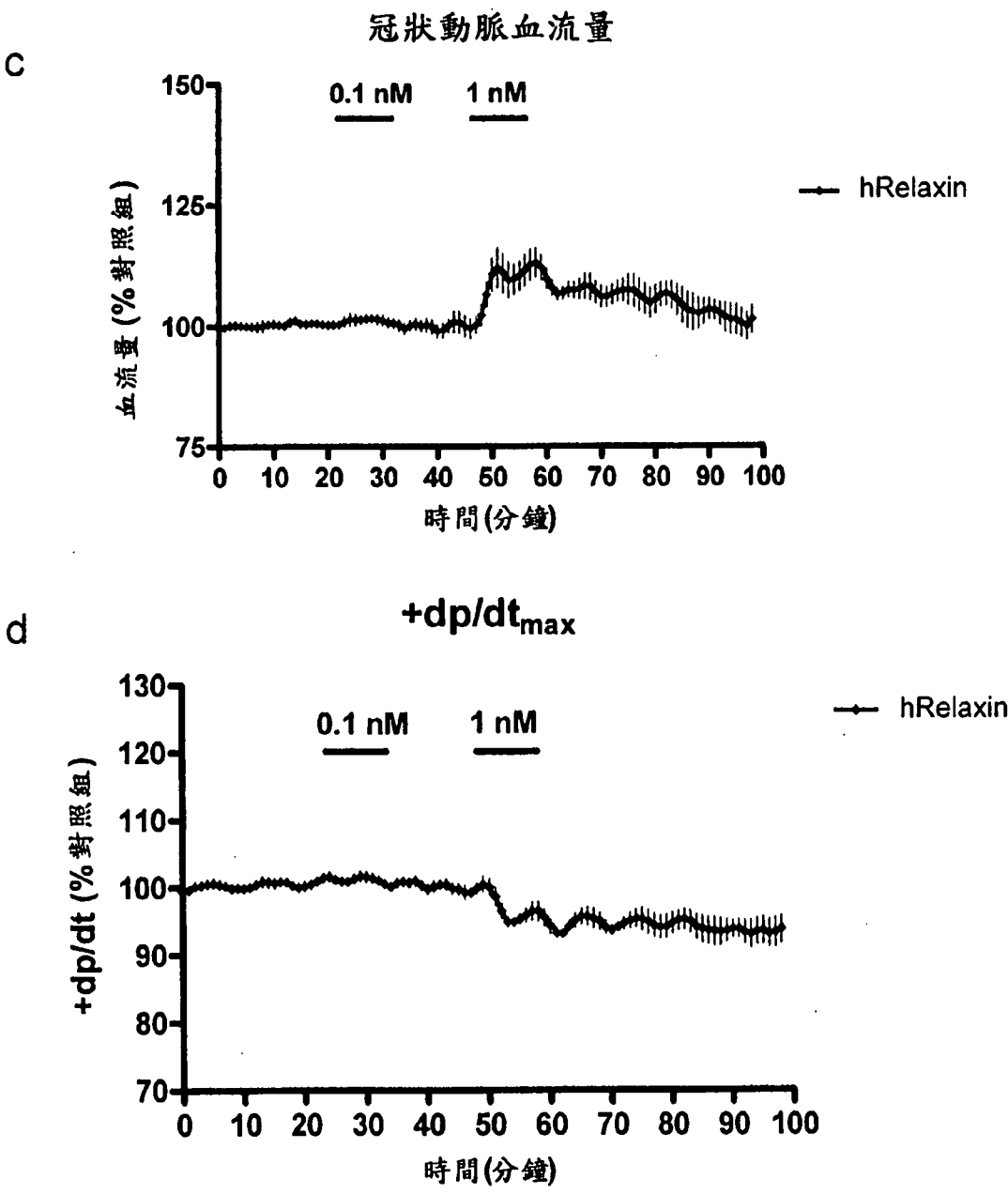


圖 11 e 與 f

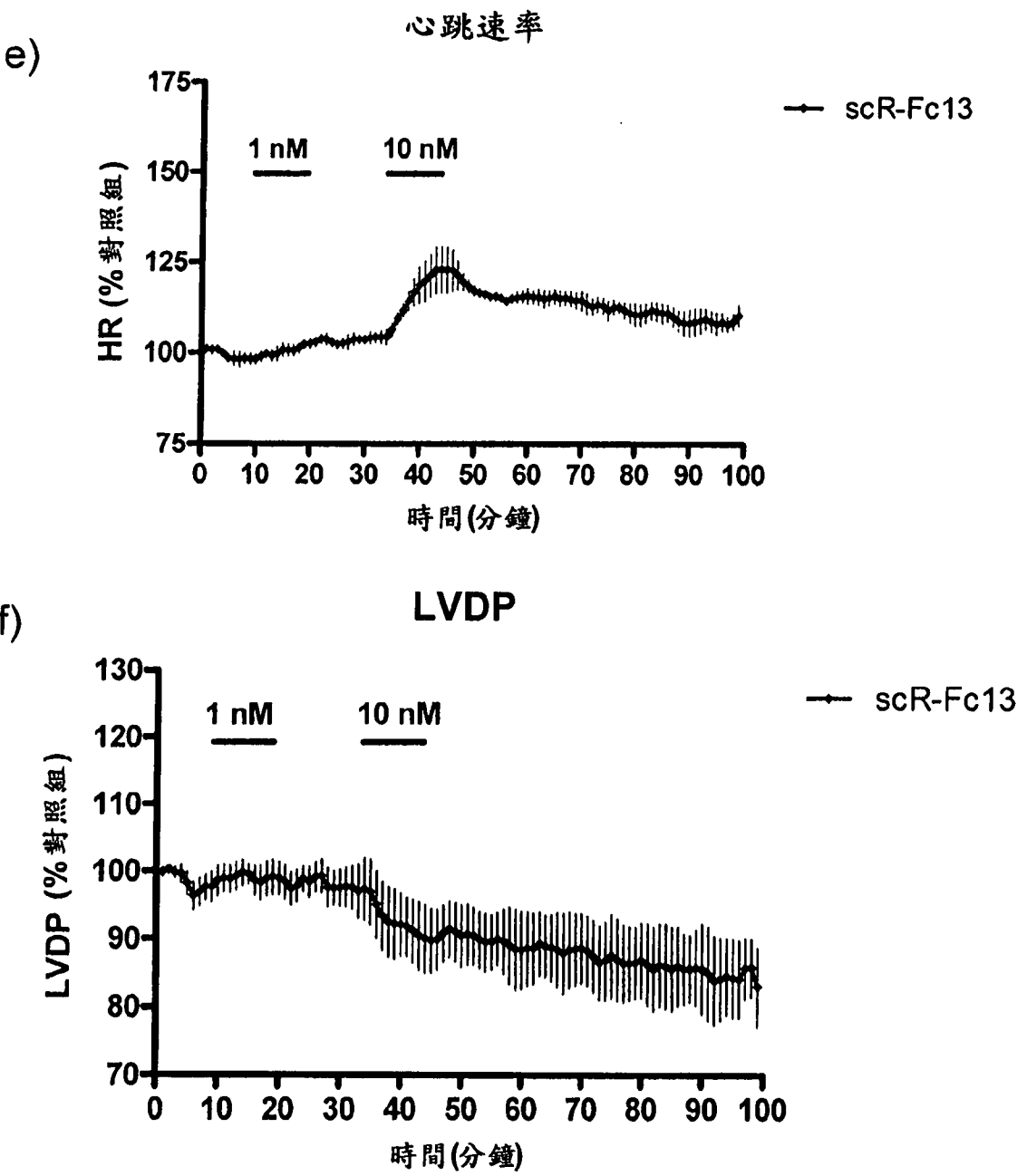


圖 11 g 與 h

