República Federativa do Brasil
Ministério da Economia
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 0915888-0 A2

(22) Data do Depósito: 11/06/2009

(43) Data da Publicação Nacional: 30/06/2020

(54) Título: SUPRESSÃO DE DOENÇAS NEUROENDÓCRINAS

(51) Int. Cl.: A61K 38/00; A61P 35/00; A61P 5/00.

(30) Prioridade Unionista: 12/06/2008 GB 0810785.6; 12/06/2008 GB 0810782.3; 14/11/2008 GB 0820884.5; 17/11/2008 GB 0820965.2.

(71) Depositante(es): SYNTAXIN LIMITED.

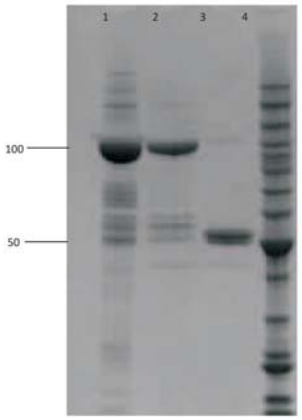
(72) Inventor(es): STEPHEN JOHNSTONE; PHILIP MARKS; KEITH FOSTER.

(86) Pedido PCT: PCT GB2009050665 de 11/06/2009

(87) Publicação PCT: WO 2009/150469 de 17/12/2009

(85) Data da Fase Nacional: 13/12/2010

(57) Resumo: POLIPEPTÍDEO, ÁCIDO NUCLÉICO E USO DO REFERIDO POLIPEPTÍDEO A presente invenção refere-se a um método para supressão de doença neuroendócrina. A terapia emprega uso de uma protease não citotóxica, a qual é direcionada para uma célula tumoral neuroendócrina, preferencialmente através de um receptor de somatostatina ou cortistatina, um receptor de GHRH, um receptor de grelina, um receptor de bombesina, um receptor de urotensina, um receptor do hormônio de concentração de melanina 1; um receptor KiSS-1 ou um receptor de peptídeo de liberação de prolactina. Quando liberada deste modo, a protease é internalizada e inibe secreção da referida célula tumoral. A presente invenção também se refere a polipeptídeos e ácidos nucleicos para aplicação nos referidos métodos.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"POLIPEPTÍDEO, ÁCIDO NUCLÉICO E USO DO REFERIDO POLIPEPTÍDEO".**

A presente invenção refere-se a terapêuticos e terapias correspondentes para o tratamento de doenças e condições neuroendócrinas.

O sistema neuroendócrino é formado de células derivadas da crista neural embrionária, do neuroectoderma e do endoderma. Pode ser dividido em tipos celulares que formam glândulas e outros que são distribuídos difusamente, isto é, o sistema neuroendócrino disseminado ou difuso. O primeiro grupo inclui as células formando a pituitária, as glândulas paratiroides e a medula adrenal. O segundo grupo inclui células na pele, pulmão, timo tiroide, pâncreas, e os tratos gastro intestinal, biliar e urogenital. Tumores neuroendócrinos podem surgir em todas estas localizações e podem provocar patofisiologia quer por seu tamanho físico causando pressão localizada quer por constricções sobre órgãos vizinhos, quer por secreções anormais de uma variedade de hormônios e outras moléculas bioativas. Estas moléculas são normalmente secretadas por células não tumorais em quantidades fisiologicamente apropriadas e sob firme controle fisiológico. No entanto, quando estas células formam tumores, as secreções podem ser excessivas levando a doença.

As terapias correntes para estas doenças de hipersecreção podem incluir a remoção cirúrgica do tumor ou tumores, quimioterapia genérica antitumoral, terapia de interferon, radioterapia e tratamento mais específico com, por exemplo, análogos de somatostatina. A preferência por modo de tratamento inicial varia de acordo com o médico assistente e, apesar de cada uma destas abordagens poder ter sucesso, elas nem sempre são apropriadas. Dependendo do tamanho e da localização do tumor a intervenção cirúrgica pode ser considerada extremamente arriscada e o tumor pode não ser completamente removido. Quimioterapia antitumoral, terapia de interferon e radioterapia são algumas vezes mal toleradas pelo paciente ou podem ser contraindicadas por outras razões.

Além disso, terapias resultando em morte de células tumorais também introduzem a possibilidade de ocorrer síndrome de lise tumoral

(TLS). A síndrome de lise tumoral é uma complicação da terapia tumoral muito grave e algumas vezes com risco de vida. Pode ser definida como uma constelação de anormalidades metabólicas resultantes de necrose tumoral espontânea ou relacionada com o tratamento ou apoptose fulminante. As anormalidades metabólicas observadas em pacientes com síndrome de lise tumoral incluem: hipercalemia, hiperuricemia, e hiperfosfatemia com hipocalcemia secundária. A síndrome de lise tumoral também pode levar a falência renal aguda (ARF).

Na maioria dos pacientes com tumores metastáticos carcinoides e endócrinos pancreáticos, o tratamento com medicamentos correntes tais como octreotida pode induzir uma rápida melhora em sintomas clínicos, tais como diarreia, desidratação, ataques de vermelhidão ("*flushing*"), hipocalemia, ulceração péptica, ataques hipoglicêmicos e lesões de pele necróticas *(Kvols et al. 1986, 1987, Ruszniewski et al.1996, Caplin et al. 1998, Kulke & Mayer 1999, Wymenga et al. 1999).* No entanto, a maioria dos pacientes apresentam dessensibilização da inibição da secreção hormonal por octreotida e lanreotida dentro de semanas a meses. Estas limitações sobre as terapias correntes representam um problema importante.

Tumores neuroendócrinos, incluindo tumores endócrinos gastroenteropancreáticos e adenomas da pituitária são doenças raras e heterogêneas (tabela 1). Em consequência seu prognóstico e sobrevida de longo termo não são conhecidos de modo geral. Independente das perspectivas de sobrevida, as secreções excessivas a partir de semelhantes tumores pode afetar notavelmente a qualidade de vida para os indivíduos afetados e deste modo o tratamento eficaz desta função aberrante é um requisito para manter a qualidade de vida dos doentes.

Tabela 1 - Incidência / prevalência de tumores neuroendócrinos importante (Estados Unidos, a menos que determinado de modo diverso)

Tipo tumoral	Incidência
tumores carcinoides	São diagnosticados cerca de 5.000 tumores carcinoides anualmente. De acordo com o NCI, Instituto Nacional do Câncer dos Estados Unidos (*National Cancer Institute*), cerca de 74% destes tumores se originam no trato gastro intestinal e 25% ocorrem no trato respiratório. Carcinoides são raros em crianças e são mais comuns em pacientes mais velhos do que a idade de 50 anos. São duas vezes mais comuns em homens. Tumores carcinoides do apêndice geralmente são benignos e frequentemente ocorrem entre as idades de 20 e 40 anos.
Insulinomas	A incidência é de cerca de 4 casos por milhão por ano e a prevalência é de cerca de 4 por milhão da população por ano
Gastrinomas	A incidência de gastrinomas ocorrendo esporadicamente ou em associação com neoplasia endócrina múltipla tipo 1 (MEN-1) é de 0,1 a 3 por milhão. A prevalência de MEN-1 é de 0,2 a 2 por 100.000. MEN-1 é diagnosticada em 30 a 38% dos pacientes com gastrinomas, ao passo que é visto que 20 a 61% dos pacientes diagnosticados com MEN-1 têm gastrinomas associados com a Síndrome de Zollinger-Ellison (ZES)
VIPomas	Prevalência = 1,12 por milhão da população
Glucagonomas	Glucagonoma é listado como uma "doença rara" pelo Office of Rare Diseases (ORD) dos National Institutes of Health (NIH). Prevalência = cerca de 1 em 2.720.000 pessoas nos EUA
Prolactinoma	Incidência: 6 a 10 por milhão por ano. Prevalência 60 a 100 por milhão
somatotrofinoma	Prevalência de Acromegalia: 40 a 60 por milhão de pessoas afetadas a qualquer tempo; Incidência (anual) de Acromegalia: 3 por milhão de casos anuais
corticotrofinoma	Incidência: 2 a 3 por milhão por ano. Prevalência 20 a 30 por milhão

Tipo tumoral	Incidência
feocromocitoma	Nos países ocidentais a prevalência de feocromocitoma pode ser estimada como estando situada entre 1:6.500 a 1:2.500 com uma incidência anual nos Estados Unidos de 500 a 1.100 casos por ano
Tirotrofinoma	Muito raro

Geralmente os sintomas destes tumores variam dependendo do tipo de tumor uma vez que eles secretam cada hormônio diferente causando sintomas diferentes (tabela 2).

Tabela 2 - Sintomas ou doenças causados por hipersecreção de tumores neuroendócrinos

Tipo tumoral	Patofisiologia e sintomas (causados por hipersecreção ao invés de pela massa tumoral)
tumores carcinoides	Uma combinação de sintomas que resultam da secreção de hormônio ou substâncias semelhantes a hormônio (por exemplo, serotonina, gastrina, ACTH, histamina) que são produzidas por alguns tumores carcinoides. Estes sintomas incluem vermelhidão, diarreia, dor abdominal semelhante a cãibra, inchação da pele ou face e pescoço, respiração ofegante, ganho de peso, aumento do pelo corporal e facial, diabetes, cefaléias, edema, lacrimejamento, fraqueza, hipertensão pulmonar, sintomas de falência cardíaca incluindo encurtamento da respiração
Insulinomas	Visão turva, diplopia, fraqueza, palpitações, confusão e comportamento bizarro. Tende a ocorrer hipoglicemia 5 horas ou cerca de 5 horas depois de uma refeição e os sintomas associados podem ser afetados pela dieta, ingestão de etanol e exercício
Gastrinomas	Diarreia, gastrite, úlceras gástricas recorrentes
VIPomas	Diarreia aquosa (3 a 20 litror por dia), hipocalemia, hipomagnesemia, hipercalcemia, acidose, vermelhidão, bexiga distendida flácida, íleo/ subíleo. Diabetes ou intolerância a glicose também são comuns.
Glucagonomas	Erupção eritematosa necrolítica (frequentemente sobre a face, extremidades e áreas intertriginosas), anemia, perda de peso, tolerância à glicose prejudicada, trombose e diarreia.

Tipo tumoral	Patofisiologia e sintomas (causados por hipersecreção ao invés de pela massa tumoral)
corticotrofinoma	doença de Cushing resultante de ACTH induzindo excesso de cortisol circulante
somatotrofinoma	Acromegalia
prolactinoma	oligomenorreia / amenorreia, galactorreia, secura vaginal, perda de libido em fêmeas; disfunção sexual (impotência), galactorreia e ginecomastia em machos
feocromocitoma	Uma ampla gama de sintomas resultantes de ações metabólicas e hemodinâmicas de catecolaminas circulantes. Hipertensão sustentada ou paroxísmica é o sinal clínico mais comum encontrado em mais de 90% dos pacientes; com frequência decrescente:- cefaléia, palpitações, palidez, náusea, vermelhidão, perda de peso, cansaço. Ansiedade / pânico, hipotensão ortostática, hiperglicemia
Tirotrofinoma	Tireotoxicose (hiperatividade da glândula tiroide), cujos sintomas incluem perda de peso ao invés de aumento do apetite, frequência cardíaca rápida, um fino tremor, aumento do nervosismo e instabilidade emocional, intolerância ao calor, e transpiração excessiva perceptível, olhos esbugalhados, hipertrofia da glândula tiroide; em cerca de um terço dos casos, o tumor também produz excesso de hormônio do crescimento resultando em acromegalia branda

As terapias correntes são altamente individualizadas uma vez que os sintomas experimentados por cada paciente são frequentemente diferentes e também podem estar mudando com o tempo. Os três objetivos potenciais de tratar um paciente são (1) remover o tumor, (2) retardar ou interromper o crescimento do tumor ou (3) melhorar os sintomas causados por hipersecreção do tumor – todos os três podem ser buscados em combinação. As terapias correntes mais comuns são descritas abaixo.

Tumores carcinoides / síndrome carcinoide

Uma abordagem dupla é frequentemente usada no tratamento de síndrome carcinoide, iniciando com cirurgia para remover o tumor ou reduzir seu tamanho, seguida por tratamento com quimioterapia ou interferons. Um procedimento conhecido como embolização hepática pode ser usado

para controlar câncer que se disseminou a partir de um tumor carcinoide dentro do fígado; ajuda a reduzir sintomas reduzindo o suprimento sanguíneo para o fígado e matando de fome as células tumorais.

Uma segunda abordagem envolve tratar sintomas com diferentes medicações: diuréticos para doença do coração, broncodilatadores para respiração ofegante, análogos de somatostatina para respiração ofegante, diarreia e vermelhidão.

Insulinomas

Os sintomas de insulinomas algumas vezes podem ser tratados através de regulação da dieta (por exemplo, por ingestão de carboidrato complexo de liberação lenta e frequente; goma guar). Com insulinoma maligno, podem ser encontradas metástases nos linfonodos circundantes e no fígado. Se o tumor não pode ser localizado antes ou durante cirurgia (intraoperativamente), pode ser removidos através de pancreatectomia distal.

Gastrinomas

Em pacientes com gastrinomas, medicação antissecretora tal como um inibidor de bomba de prótons é usada para controlar hipersecreção de ácido gástrico. Se um paciente não puder tomar esta medicação, é recomendada uma gastrectomia total. Foi demostrado que cirurgia produz um índice de cura de 30% em 5 anos, e é recomendada em pacientes sem metástases hepáticas, MEN 1, ou complicações de condições médicas que podem limitar a expectativa de vida. (Noventa e cinco por cento dos pacientes com gastrinomas têm tumores). Pacientes com doença metastática podem se benefiar de quimioterapia ou octreotida, se a quimioterapia fracassar.

VIPomas

A terapia de primeira linha para VIPomas tem por objetivo corrigir a profunda hipocalemia, desidratação e acidose metabólica por reposição de fluidos e eletrólitos. Tipicamente são administrados aos pacientes até 5 L de fluido e 350 mEq de potássio diariamente. O tratamento ótimo para VIPomas é a remoção cirúgica do tumor primário.

Glucagonomas

Cirurgia é usada para aliviar os efeitos de glucagonomas ou para

reduzir o tamanho dos tumores, embora cerca de dois terços dos pacientes não sejam curados por cirurgia mesmo depois de localização com sucesso do tumor e avaliação de doença metastática. Atualmente, não existem fármacos ativos usados para tratar glucagonoma.

Prolactinomas

O tratamento medicinal é geralmente com os agonistas de dopamina bromocriptina ou cabergolina. Estes fármacos encolhem o tumor e retornam os níveis de prolactina ao normal em cerca de 80 por cento dos pacientes. No entanto, o uso destes agonistas é associado com efeitos colaterais tais como náusea e vertigem. Cirurgia é uma opção onde terapia medicinal não pode ser tolerada ou se não tiver êxito em reduzir os níveis de prolactina, restaurar a reprodução normal e a função da pituitária, e reduzir o tamanho do tumor. No entanto, os resultados da cirurgia dependem muito do tamanho do tumor e do nível de prolactina bem como do conhecimento e da experiência do neurocirurgião. Dependendo do tamanho do tumor e de como é removido, estudos mostram que 20 a 50 por cento recidivarão, geralmente dentro de cinco anos.

Somatotrofinomas (por exemplo, causando acromegalia)

O tratamento corrente para pacientes com acromegalia inclui terapias cirúrgicas, por radiação, e medicinais. O tratamento depende do tamanho e da extensão do tumor e da necessidade de rápida cessação da função hormonal que resulta em graves sequelas clínicas. Os tratamentos de rotina incluem cirurgia (geralmente uma abordagem transesfenoidal) com ou sem terapia de radiação no pós operatório, tratamento com bromocriptina, tratamento com octreotida e, mais recentemente, tratamento com pegvisomant. As terapias descritas acima têm sucesso variável.

Corticotrofinomas

Para pacientes com adenomas corticotróficos, microcirurgia transesfenoidal é o tratamento de escolha. No entanto, os índices de remissão reportados na maioria das séries são de cerca de 70% a 90%. Terapia com fármacos é considerada como sendo um adjunto para microcirurgia transesfenoidal em casos com um tumor residual e em casos nos quais se

espera os efeitos da terapia de radiação. São usados inibidores da esteroidogênese, incluindo mitotane, metirapone, cetoconazol, e aminoglutetimida. Cetoconazol é destes agentes o melhor tolerado, embora somente em cerca de 70% dos pacientes. Terapia de radiação tem sido usada em pacientes que são considerados candidatos cirúrgicos pobres e também tem sido usada como terapia adjuvante em pacientes com tumor ativo residual ou recorrente.

Feocromocitoma

Remoção laparoscópica de tumor é o procedimento preferencial. No entanto, complicações durante a cirurgia precisam ser mantidas em um mínimo por tratamento médico apropriado no pré-operatório para prevenir graves complicações induzidas por catecolamina, e potencialmente com risco de vida durante a cirurgia, incluindo crises hipertensivas, arritmias cardíacas, edema pulmonar, e isquemia cardíaca. Regimes tradicionais incluem bloqueadores α-adrenoceptores, bloqueadores combinados α/β-adrenoceptores, e bloqueadores de canais de cálcio, todos os quais podem ter efeitos indesejados tanto antes quanto depois da cirurgia.

Tirotrofinomas

Cirurgia transesfenoidal é o tratamento de escolha para pacientes com adenomas tirotróficos. Terapia de radiação adjuvante pode ser empregada quando se sabe que cirurgia é não curativa mesmo se o paciente ainda for eutiroidiano apesar de ser inevitável recaída, e o efeito pleno da terapia de radiação requer meses ou anos. A terapia medicinal pode ser necessária para pacientes que ainda têm sintomas de hipertiroidismo apesar de cirurgia e radiação externa.

Enquanto representam condições humanas raras, mas que afetam a vida, os tumores neuroendócrinos continuam a impor um problema importante para o tratamento da saúde animal em uma escala global. Por conseguinte, existe a necessidade na técnica de terapêuticos e terapias alternativos e/ ou aprimorados que tratam um ou mais dos problemas acima.

Em todos os casos, a cirurgia pode ser de sucesso limitado bem como ter riscos inerentes para o paciente. Além disso, tratamentos com fár-

macos correntes também não são garantia de sucesso para aliviar os sintomas em todos os pacientes.

A presente invenção resolve um ou mais dos problemas acima ou riscos associados com cirurgia ou terapias medicinais existentes, proporcionando uma nova categoria de agente não citotóxico designado para suprimir secreções tumorais indesejáveis (por exemplo, anormalmente elevadas) e deste modo minimizando ou revertendo a doença resultante.

Em mais detalhes, um primeiro aspecto da presente invenção proporciona um polipeptídeo para aplicação na supressão de secreção / secreções de um tumor neuroendócrino, o referido polipeptídeo compreendendo:

a. uma protease não citotóxica, cuja protease é capaz de clivar uma proteína do aparelho de fusão exocítica em uma célula tumoral neuroendócrina;

b. uma Porção de Direcionamento (TM) que é capaz de ligar a um Sítio de Ligação sobre uma célula tumoral neuroendócrina, cujo Sítio de Ligação é capaz de sofrer endocitose para ser incorporado em um endossoma dentro da célula tumoral neuroendócrina; e

c. um domínio de translocação que é capaz de translocar a protease de dentro de um endossoma, através da membrana endossômica e para dentro do citosol da célula tumoral neuroendócrina.

Na aplicação, um polipeptídeo da invenção liga a uma célula tumoral neuroendócrina. Depois disso, o componente de translocação efetua o transporte do componente de protease para dentro do citosol da célula tumoral. Finalmente, uma vez dentro, a protease inibe o processo de fusão exocítica da célula tumoral neuroendócrina. Deste modo, inativando o aparelho de fusão exocítica da célula tumoral neuroendócrina, o polipeptídeo da invenção inibe secreção a partir da mesma. Por conseguinte, os polipeptídeos da presente invenção suprimem / tratam uma ou mais das várias condições patofisiológicas ou sintomas listados na Tabela 2 acima.

As células-alvo principais da presente invenção são células tumorais de origem neuroendócrina que secretam um ou mais hormônios (ou

outras moléculas bioativas) levando ao desenvolvimento de uma condição patofisiológica.

A presente invenção proporciona polipeptídeos que são capazes de (e para aplicação em) supressão da secreção de hormônios e/ou outras moléculas bioativas de tumores neuroendócrinos.

Em um aspecto relacionado da presente invenção, é proporcionado um método para tratar um tumor neuroendócrino em um paciente, o referido método compreendendo administrar ao paciente uma quantidade terapeuticamente eficaz de um polipeptídeo da presente invenção.

Sem desejar ser limitado por qualquer teoria, os presentes inventores acreditam que secreção indesejável (por exemplo, níveis incomuns de) de moléculas fisiologicamente ativas de tumores neuroendócrinos causam e mantêm condições patológicas em um paciente. Deste modo, por inibição das referidas secreções, a progressão do estado de doença pode ser interrompida e os sintomas revertidos.

Os polipeptídeos da presente invenção são particularmente adequados para uso no tratamento de uma série de tumores neuroendócrinos, incluindo suas metástases secretoras de hormônio, condições pré-cancerosas e sintomas das mesmas. A este respeito, 'tratamento' inclui redução ou eliminação de secreções excessivas a partir de semelhantes células.

A título de exemplo, células-alvo de tumor neuroendócrino importante da presente invenção incluem: adenomas da pituitária e/ ou tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos (GEP-NETs). Os tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos estão localizados essencialmente no estômago, intestino ou pâncreas e secretam quantidades excessivas de hormônios e outras moléculas bioativas que são normalmente secretadas em níveis menores sob regulação fisiológica. Estas secreções contribuem para os sintomas experimentados pelos pacientes. Os tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos podem ser divididos em carcinoides e subtipos não carcinoides.

Os tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos carcinoi-

des (55% de todos os tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos) tendem a ser classificados de acordo com sua localização tecidual e incluem, em ordem de prevalência, os originários de células no apêndice (38%), íleo (23%), reto (13%) e brônquio (11,5%).

Os tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos não carcinoides incluem insulinomas das ilhotas pancreáticas secretando excesso de insulina (17%), tumores de tipo desconhecido (15%), gastrinomas do pâncreas ou duodeno secretando excesso de gastrina (9%), VIPomas do pâncreas, pulmão ou ganglioneuromas, secretando excesso de polipeptídeo intestinal vasoativo, e glucagonomas, tumores das ilhotas pancreáticas secretando excesso de glucagon.

Os tumores da pituitária, os quais tendem a ser classificados de acordo com seu tipo de secreção ou identidade celular, incluem: prolactinomas secretando prolactina (os mais comuns), somatotrofinomas (hormônio do crescimento, corticotrofinomas (hormônio adrenocorticotrófico), tirotrofinomas (hormônio estimulante da tiroide), gonadotrofinomas (FSH, LH), e adenomas da pituitária não funcionantes.

Outros tumores secretores incluem tumores medulares da tiroide, tumores pulmonares de células pequenas e não pequenas, tumores de células de Merkel, e feocromocitomas. Os últimos podem ser fatais caso o excesso de adrenalina secretada leve a grave hipertensão. A hipersecreção referida pode tornar o indivíduo inadequado para cirurgia para remover a massa tumoral e assim pode surgir um ciclo de reforço prejudicial e é desejável tratamento do tumor para minimizar a secreção.

Um subgrupo particularmente preferencial de células tumorais neuroendócrinas tratado pela presente invenção é: insulinomas, gastrinomas, VIPomas, glucagonomas, prolactinomas, somatotrofinomas, corticotrofinomas, tirotrofinomas e feocromocitomas.

Por supressão das funções secretoras de células tumorais neuroendócrinas (tais como o subgrupo de células tumorais acima), a presente invenção proporciona uma terapia para o tratamento de, entre outras, condições tais como doença de Cushing, acromegalia, síndrome carcinoide, sín-

drome hipoglicêmica, eritema migratório necrolítico, síndrome de Zollinger-Ellison e síndrome de Verner-Morrison. Também são proporcionadas terapias para tratamento dos sintomas decorrentes de secreções de tumores neuroendócrinos indesejáveis (vide a Tabela 2).

O componente 'bioativo' dos polipeptídeos da presente invenção é proporcionado por uma protease não citotóxica. Este grupo distinto de proteases agem por proteínas de transporte intracelular por clivagem proteolítica conhecidas como proteínas SNARE (por exemplo, SNAP-25, VAMP, ou Sintaxina) – vide Gerald K (2002) "Cell and Molecular Biology" (4th edition) *John Wiley & Sons, Inc.* O acrônimo SNARE deriva do termo **R**eceptor de **A**nexação de **N**SF **S**olúvel, onde NSF significa **F**ator **S**ensível a **N**-etilmaleimida. Proteínas SNARE são integrais para formação de vesícula intracelular, e portanto para secreção de moléculas através de transporte de vesícula de uma célula. Por conseguinte, uma vez liberada para uma célula-alvo desejada, a protease não citotóxica é capaz de inibir a secreção celular da célula-alvo.

Proteases não citotóxicas são uma classe distinta de moléculas que não mata células; ao invés, elas agem inibindo processos celulares diferentes da síntese de proteína. Proteases não citotóxicas são produzidas como parte de uma molécula de toxina maior por uma variedade de plantas, e por uma variedade de micro-organismos tais como *Clostridium sp.* e *Neisseria sp.*

Neurotoxinas clostridiais representam um grupo importante de moléculas de toxinas não citotóxicas, e compreendem duas cadeias de polipeptídeos ligadas juntas por uma ligação dissulfeto. As duas cadeias são denominadas a cadeia pesada (cadeia H), a qual tem uma massa molecular de cerca de 100 kDa, e a cadeia curta (cadeia L), a qual tem uma massa molecular de cerca de 50 kDa. É a cadeia L, a qual possui uma função de protease e apresenta uma elevada especificidade de substrato para proteínas associadas com vesícula e/ou membrana plasmática (SNARE) envolvidas no processo exocítico (por exemplo, sinaptobrevina, sintaxina ou SNAP-25). Estes substratos são componentes importantes do mecanismo neuros-

secretor.

Neisseria sp., a mais importante da espécie *N. gonorrhoeae*, e *Streptococcus sp.*, o mais importante da espécie *S. pneumoniae*, produzem moléculas de toxinas não citotóxicas funcionalmente similares. Um exemplo de uma protease não citotóxica semelhante é protease de IgA (vide a publicação de Patente Internacional No. WO 99/58571, a qual é por este incorporada em sua totalidade por meio de referência à mesma). Deste modo, a protease não citotóxica da presente invenção é preferencialmente uma protease de neurotoxina clostridial ou uma protease de IgA.

Voltando agora ao componente da Porção de Direcionamento (TM) da presente invenção, é este componente que liga o polipeptídeo da presente invenção a uma célula tumoral neuroendócrina.

Deste modo, uma porção de direcionamento da presente invenção liga a um receptor sobre uma célula tumoral neuroendócrina. A título de exemplo, uma porção de direcionamento da presente invenção pode ligar a um receptor selecionado entre o grupo compreendendo: um receptor de somatostatina (SST), incluindo variantes de junção do mesmo (por exemplo, sst_1, sst_2, sst_3, sst_4 e sst_5); um receptor do hormônio de liberação do hormônio do crescimento (GHRH) – também conhecido como um receptor de GRF; um receptor de grelina; um receptor de bombesina (por exemplo, BRS-1, BRS-2, ou BRS-3); um receptor de urotensina (por exemplo, um receptor de urotensina II); um receptor do hormônio de concentração de melanina 1; um receptor do hormônio de liberação de prolactina; um receptor do hormônio de liberação de gonadotropina (GnRHR) tal como um receptor de GnRHR Tipo 1 e/ ou um receptor de GnRHR Tipo 2; e/ ou um receptor KiSS-1.

Em uma modalidade, uma porção de direcionamento (TM) da presente invenção liga a um receptor de somatostatina (SST). Exemplos de porções de direcionamento de peptídeos SST adequados incluem SST de extensão total e cortistatina (CST), bem como truncações e análogos peptídicos dos mesmos tais como: SANSNPAMAPRERKAGCKNFFWKTFTSC (SST-28); AGCKNFFWKTFTSC (SST-14); QEINTERVALOPQQSARRDRMPCRNFFWKTFSSCK (CST-29); QERPPLQQPP-

HRDKKPCKNFFWKTFSSCK (CST-29); QERPPPQQPP-HLDKKPCKNFFWKTFSSCK (CST-29); DRMPCRNFFWKTFSSCK (CST-17); PCRNFFWKTFSSCK (CST-14); e PCKNFFWKTFSSCK (CST-14); D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2 (BIM 23052), D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-D-Nal-NH2 (BIM 23056) ou c[Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2 (BIM23268); peptídeos de octreotida, peptídeos de lanreotida, BIM23027, CYN154806, BIM23027, peptídeos de vapreotida, peptídeos de seglitida, e SOM230. Estas porções de direcionamento ligam a sst receptores, tais como sst_1, sst_2, sst_3, sst_4 e sst_5 receptores, os quais estão presentes sobre células tumorais neuroendócrinas relevantes para a presente invenção – vide a Tabela 3. SST e CST têm elevada homologia estrutural, e ligam a todos os sst receptores conhecidos.

Tabela 3

Expressão de subtipos de receptores de somatostatina em tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos (%)

	sst1	sst2	sst3	sst4	sst5
Todos os tumores	68	86	46	93	57
Insulinoma	33	100	33	100	67
Gastrinoma	33	50	17	83	50
Glucagonoma	67	100	67	67	67
VIPoma	100	100	100	100	100
Não funcionantes	80	100	40	100	60
tumores neuroendócrinos do intestino médio	80	95	65	35	75

Em outra modalidade, uma porção de direcionamento da presente invenção liga a um receptor do hormônio de liberação do hormônio do crescimento (GHRH). GHRH também é conhecido como fator de liberação do hormônio do crescimento (GRF ou GHRF) ou somatocrinina. Peptídeos GHRH adequados incluem peptídeo GHRH de extensão total (1-44), e truncações do mesmo tais como GHRH (1-27, 1-28, 1-29), GHRH (1-37), e GHRH (1-40, 1-43)-OH, bem como análogos peptídicos tais como: BIM 28011 ou NC-9-96; [MeTyr1,Ala15,22,Nle27]-hGHRH(1-29)-NH2; MeTyr1,Ala8,9,15,22,28,Nle27]-hGHRH(1-29)-NH2; ciclo(25-

29)[MeTyr1,Ala15,DAsp25,Nle27,Orn29+ ++]-hGHRH(1-29)-NH2; (D-Tyr1)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Ala2)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Asp3)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Ala4)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Thr7)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Asn8)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Ser9)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Tyr10)-GHRH (1-29)-NH2; (Phe4)-GHRH (1-29)-NH2; (pCl-Phe6)-GHRH (1-29)-NH2; (N-Ac-Tyr1)-GHRH (1-29)-NH2; (N-Ac-Tyr1, D-Ala2)-GHRH (1-29)-NH2; (N-Ac-D-Tyr1, D-Ala2)-GHRH (1-29)-NH2; (N-Ac-D-Tyr1, D-Ala 2, D-Asp3)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Ala2, NLeu27)-GHRH (1-29)-NH2; (His1, D-Ala2, NLeu27)-GHRH (1-29)-NH2; (N-Ac-His1, D-Ala2, N-Leu27)-GHRH (1-29)-NH2; (His1, D-Ala 2, D-Ala 4, Nleu27)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Ala2, D-Asp3, D-Asn8, NLeu27)-GHRH (1-29)-NH2; (D-Asp3, D-Asn8, NLeu27)-GHRH (1-29)-NH2; [His1, NLeu27]-hGHRH(1-29)-NH2; [NLeu27]-hGHRH(1-29)-NH2; H-Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Ser-Asn-Gln-Glu-Arg-Gly-Ala-Arg-Ala-Arg-Leu-NH2; H-Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-NH2; H-Tyr-D-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Ser-Arg-NH2; H-Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Ile-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Arg-Asn-Gln-Glu-Gln-Gly-Ala-Lys-Val-Arg-Leu-NH2; H-Tyr-Ala-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Asn-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Gly-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Met-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Arg-Asn-Gln-Glu-Gln-Gly-Ala-Lys-Val-Arg-Leu-NH2; His-Val-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Gln-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Ala-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Leu-Asn-Arg; His-Val-Asp-Ala-Ile-Phe-Thr-Gln-Ser-Tyr-Arg-Lys-Val-Leu-Ala-Gln-Leu-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Leu-Asn-Arg-Gln-Gln-Gly-Glu-Arg-Asn-Gln-Glu-Gln-Gly-Ala.

Em outra modalidade, uma porção de direcionamento da presente invenção liga a um receptor de grelina. Exemplos de porções de direcionamento adequadas a este respeito incluem: peptídeos de grelina tais como grelina de extensão total (por exemplo, $grelina_{117}$) e truncações e análogos peptídicos da mesma tais como $grelina_{24-117}$, $grelina_{52-117}$, [Trp3, Arg5]-grelina

(1-5), des-Gln-Grelina, cortistatina-8, His-D-Trp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH_2, peptídeo de liberação de hormônio do crescimento (por exemplo, GHRP-6), ou hexarelina.

Em uma modalidade adicional, a porção de direcionamento liga a um receptor de bombesina (por exemplo, BRS-1, BRS-2, ou BRS-3). Exemplos de peptídeos de bombesina adequados incluem: bombesina de extensão total - um peptídeo de 14 aminoácidos isolado originalmente da pele de um sapo (pGlu-Gln-Arg-Leu-Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2); e os dois homólogos conhecidos em mamíferos, a saber neuromedina B, e (GRP) tais como: GRP porcino - Ala-Pro-Val-Ser-Val-Gly-Gly-Gly-Thr-Val-Leu-Ala-Lys-Met-Tyr-Pro-Arg-Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2, e GRP humano - Val-Pro-Leu-Pro-Ala-Gly-Gly-Gly-Thr-Val-Leu-Thr-Lys-Met-Tyr-Pro-Arg-Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2. Referência a peptídeos de bombesina engloba homólogos dos mesmos tais como neuromedina B e GRP, e inclui truncações e análogos peptídicos dos mesmos.

Em outra modalidade, uma porção de direcionamento da presente invenção liga a um receptor de urotensina. Porções de direcionamento adequadas a este respeito incluem peptídeos de urotensina tais como Urotensina-II (U-II), o qual é um neuropeptídeo cíclico. A região cíclica de C-terminal de U-II é fortemente conservada através de diferentes espécies, e inclui os seis resíduos aminoácidos (-Cys Ple-Trp-Lys-Tyr-Cys-), a qual é estruturalmente similar à região central de somatostatina-14 (-Phe-Trp-Lys-Thr-). Peptídeos de urotensina da presente invenção incluem os peptídeos precursores de U-II, tais como prepro-urotensina-II (incluindo as duas isoformas humanas 124 e 139 dos mesmos) bem como outras truncações tais como a forma de peptídeo maduro de onze resíduos e análogos peptídicos do mesmo.

Em uma modalidade adicional, uma porção de direcionamento da presente invenção liga a um receptor do hormônio de concentração de melanina 1. Exemplos de porções de direcionamento adequadas a este respeito incluem: peptídeos de hormônio de concentração de melanina (MCH)

tais como MCH de extensão total, truncações e análogos dos mesmos.

Em outra modalidade, uma porção de direcionamento da presente invenção liga a um receptor do hormônio de liberação de prolactina. Um exemplo de uma porção de direcionamento adequada a este respeito inclui peptídeo de liberação de prolactina, truncações e análogos dos mesmos.

Em outra modalidade, uma porção de direcionamento da presente invenção liga a um receptor do hormônio de liberação de gonadotropina (GnRH). GnRH é também conhecido como Hormônio de Liberação de Hormônio Luteinizante (LHRH). Exemplos de porções de direcionamento de receptor de GnRH adequadas incluem: peptídeos GnRHI, peptídeos GnRHII e peptídeos GnRHIII, por exemplo o polipeptídeo precursor de GnRH de extensão total de 92 aminoácidos e truncações do mesmo tais como o decapeptídeo: pyroGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly CONH2.

Em uma modalidade adicional, uma porção de direcionamento da presente invenção liga a um receptor KiSS-1. Exemplos de porções de direcionamento adequadas a este respeito incluem peptídeos Kisspeptina-10, Kisspeptina-54, truncações e análogos dos mesmos.

De acordo com um segundo aspecto da presente invenção, é proporcionada uma composição de substância, a saber um polipeptídeo compreendendo:

a. uma protease não citotóxica, cuja protease é capaz de clivar uma proteína do aparelho de fusão exocítica em uma célula tumoral neuroendócrina;

b. uma Porção de Direcionamento (TM) que é capaz de ligar a um Sítio de Ligação sobre uma célula tumoral neuroendócrina, cujo Sítio de Ligação é capaz de sofrer endocitose para ser incorporado em um endossoma dentro da célula tumoral neuroendócrina; e

c. um domínio de translocação que é capaz de translocar a protease de dentro de um endossoma, através da membrana endossômica e para dentro do citosol da célula tumoral neuroendócrina.

Todas as característica\s do primeiro aspecto da presente invenção se aplicam igualmente ao segundo aspecto descrito acima.

Em uma modalidade preferencial do primeiro aspecto e/ ou do segundo aspecto da presente invenção, a porção de direcionamento tem uma sequência de aminoácidos de peptídeo humano. Deste modo, uma porção de direcionamento altamente preferencial é um peptídeo SST humano, um peptídeo CST humano ou um peptídeo GHRH humano.

Preparação de polipeptídeos

Os polipeptídeos da presente invenção compreendem 3 componentes principais: um 'bioativo' (isto é, uma protease não citotóxica); uma porção de direcionamento; e um domínio de translocação. A tecnologia geral associada com a preparação de semelhantes proteínas de fusão é frequentemente referida como tecnologia de toxina redirecionada. A título de exemplificação, foi consultado: a Publicação de Patente Internacional No. WO 94/21300; a Publicação de Patente Internacional No. WO 96/33273; a Publicação de Patente Internacional No. WO 98/07864; a Publicação de Patente Internacional No. WO 00/10598; a Publicação de Patente Internacional No. WO 01/21213; a Publicação de Patente Internacional No. WO 06/059093; a Publicação de Patente Internacional No. WO 00/62814; a Publicação de Patente Internacional No. WO 00/04926; a Publicação de Patente Internacional No. WO 93/15766; a Publicação de Patente Internacional No. WO 00/61192; e a Publicação de Patente Internacional No. WO 99/58571. Todas estas publicações são incorporadas aqui, a este requerimento de patente, por meio de referência às mesmas.

Em mais detalhes, o componente da porção de direcionamento da presente invenção pode ser fundido ou ao componente de protease ou ao componente de translocação da presente invenção. A referida fusão é preferencialmente por meio de uma ligação covalente, por exemplo quer uma ligação covalente direta ou através de uma molécula espaçadora / encadeadora. O componente de protease e o componente de translocação são preferencialmente encadeados juntos através de uma ligação covalente, por exemplo quer uma ligação covalente direta ou através de uma molécula espaçadora / encadeadora. Moléculas espaçadoras / encadeadas adequadas são de conhecimento geral na técnica, e tipicamente compreendem uma

sequência à base de aminoácidos de entre 5 e 40, preferencialmente entre 10 e 30 resíduos aminoácidos de extensão.

Na aplicação, os polipeptídeos têm uma conformação de bi-cadeia, em que o componente de protease e o componente de translocação são encadeados juntos, preferencialmente através de uma ligação dissulfeto.

Os polipeptídeos da presente invenção podem ser preparados por técnicas de conjugação química convencional, as quais são de conhecimento geral de uma pessoa versada. A título de exemplo, é feita referência a Hermanson, G.T. (1996), Bioconjugate techniques, Academic Press, e a Wong, S.S. (1991), Química de conjugação e reticulação de proteína (*Chemistry of protein conjugation and cross-linking)*, CRC Press, Nagy *et al.*, PNAS 95 p1794-99 (1998). Metodologias detalhadas adicionais para fixação de porções de direcionamento sintéticas a um polipeptídeo da presente invenção são proporcionadas, por exemplo, na Patente Européia No. EP0257742. As publicações de conjugação mencionadas acima são incorporadas aqui, a este requerimento de patente, por meio de referência às mesmas.

Alternativamente, os polipeptídeos podem ser preparados por preparação recombinante de uma única polipeptídeo proteína de fusão (vide, por exemplo, a Publicação de Patente Internacional No. WO 98/07864). Esta técnica se baseia no mecanismo bacteriano *in vivo* pelo qual neurotoxina clostridial nativa (isto é, holotoxina) é preparada, e resulta em uma proteína de fusão tendo a seguinte disposição estrutural 'simplificada':

NH_2 - [componente de protease] – [componente de translocação] – [TM] - COOH

De acordo com a Publicação de Patente Internacional No. WO 98/07864, a porção de direcionamento é disposta em direção à extremidade de C-terminal da proteína de fusão. A proteína de fusão é então ativada por tratamento com uma protease, a qual cliva em um sítio entre o componente de protease e o componente de translocação. Uma proteína de cadeia dupla é produzida deste modo, compreendendo o componente de protease como uma cadeia única de polipeptídeo anexada de modo covalente (através de

uma ponte de dissulfeto) a outra cadeia única de polipeptídeo contendo o componente de translocação mais porção de direcionamento.

Alternativamente, de acordo com Publicação de Patente Internacional No. WO 06/059093, o componente da porção de direcionamento da proteína de fusão é localizado em direção ao meio da sequência de proteína de fusão linear, entre o sítio de clivagem da protease e o componente de translocação. Isto assegura que a porção de direcionamento seja anexada ao domínio de translocação (isto é, como ocorre com holotoxina clostridial nativa), embora neste caso os dois componentes sejam revertidos em ordem face a face com a holotoxina nativa. Clivagem subsequente no sítio de clivagem de protease expõe a porção N-terminal da porção de direcionamento, e proporciona a proteína de fusão do polipeptídeo bi-cadeia.

A uma ou mais sequências de clivagem de protease acima mencionadas podem ser introduzidas (e/ ou qualquer sequência de clivagem inerente removida) no nível de DNA por meios convencionais, tais como por mutagênese sítio-dirigida. Triagem para confirmar a presença de sequências de clivagem pode ser realizada manualmente ou com a assistência de programa de computação (por exemplo, o programa MapDraw da DNASTAR, Inc.). Apesar de poder ser empregado qualquer sítio de clivagem de protease (isto é, clostridial, ou não clostridial), os seguintes são preferenciais:

Enteroquinase	(DDDDK↓)
Fator Xa	(IEGR↓ / IDGR↓)
TEV (vírus "Etch" do tabaco)	(ENLYFQ↓G)
Trombina	(LVPR↓GS)
PreScission	(LEVLFQ↓GP).

Sítios de clivagem de protease adicionais incluem sequências de reconhecimento que são clivadas por uma protease não citotóxica, por exemplo por uma neurotoxina clostridial. Estas incluem as sequências de reconhecimento de proteína SNARE (por exemplo, SNAP-25, sintaxina, VAMP) que são clivadas por proteases não citotóxicas tais como neurotoxinas clostridiais. Exemplos particulares são proporcionados na Patente dos Estados Unidos No. US2007/0166332, a qual é por este incorporada em sua

totalidade por meio de referência à mesma.

Também englobado pelo termo sítio de clivagem de protease é uma inteína, a qual é uma sequência autoclivante. A reação de autojunção é controlável, por exemplo, variando a concentração de agente redutor presente. Os sítios de clivagem de 'ativação' mencionados acima também podem ser empregados como um sítio de clivagem 'destrutivo' (discutido abaixo) caso um sítio de clivagem de ativação seja incorporado em um polipeptídeo da presente invenção.

Em uma modalidade preferencial, a proteína de fusão da presente invenção pode compreender uma ou mais etiquetas de purificação localizadas em N-terminal e/ ou C-terminal. Apesar de poder ser empregada qualquer etiqueta de purificação, as seguintes são preferenciais:

Etiqueta de His (por exemplo, 6 × histidina), preferencialmente como uma etiqueta de C-terminal e/ ou N-terminal

Etiqueta de MBP (proteína de ligação de maltose), preferencialmente como uma etiqueta de N-terminal

Etiqueta de GST (glutationa-S-transferase), preferencialmente como uma etiqueta de N-terminal

Etiqueta de His-MBP, preferencialmente como uma etiqueta de N-terminal

Etiqueta de GST-MBP, preferencialmente como uma etiqueta de N-terminal

Etiqueta de Tioredoxina, preferencialmente como uma etiqueta de N-terminal

Etiqueta de CBD (Domínio de Ligação de Quitina), preferencialmente como uma etiqueta de N-terminal.

Uma ou mais moléculas espaçadoras / encadeadoras de peptídeos podem ser incluídas na proteína de fusão. Por exemplo, um ligante de peptídeo pode ser empregado entre uma etiqueta de purificação e o resto da molécula da proteína de fusão.

Deste modo, um terceiro aspecto da presente invenção proporciona uma sequência de ácido nucleico (por exemplo, DNA) codificando um

polipeptídeo conforme descrito acima (isto é, o segundo aspecto da presente invenção).

O ácido nucleico referido pode ser incluído sob a forma de um vetor, tal como um plasmídeo, o qual pode opcionalmente incluir uma ou mais de uma origem de replicação, um sítio de integração de ácido nucleico, um promotor, um terminador, e um sítio de ligação de ribossoma.

A presente invenção também inclui um método para expressar a sequência de ácido nucleico descrita acima (isto é, o terceiro aspecto da presente invenção) em uma célula hospedeira, em particular em *E. coli* ou através de um sistema de expressão de baculovírus.

A presente invenção também inclui um método para ativar um polipeptídeo da presente invenção, o método referido compreendendo contactar o polipeptídeo com uma protease que cliva o polipeptídeo em um sítio de reconhecimento (sítio de clivagem) localizado entre o componente de protease não citotóxica e o componente de translocação, deste modo convertendo o polipeptídeo em um polipeptídeo bi-cadeia em que os componentes de protease não citotóxica e de translocação são ligados juntos por uma ligação dissulfeto. Em uma modalidade preferencial, o sítio de reconhecimento não é nativo para uma neurotoxina clostridial que ocorre naturalmente e/ ou para uma protease de IgA que ocorre naturalmente.

Os polipeptídeos da presente invenção podem ser adicionalmente modificados para reduzir ou prevenir efeitos colaterais indesejados associados com dispersão em áreas não alvo. De acordo com esta modalidade, o polipeptídeo compreende um sítio de clivagem destrutiva. O sítio de clivagem destrutiva é distinto do sítio de 'ativação' (isto é, formação bi-cadeia), e é clivável por uma segunda protease e não pela protease não citotóxica. Além disso, quando clivado deste modo no sítio de clivagem destrutiva pela segunda protease, o polipeptídeo tem potência reduzida (por exemplo, reduzida capacidade de ligação à célula-alvo pretendida, atividade de translocação reduzida e/ ou atividade de protease não citotóxica reduzida). Para totalidade, quaisquer dos sítios de clivagem 'destrutivos' da presente invenção podem ser empregados separadamente como um sítio de 'ativação' em um

polipeptídeo da presente invenção.

Deste modo, de acordo com esta modalidade, a presente invenção proporciona um polipeptídeo que pode ser controlavelmente inativado e/ ou destruído em uma localização fora do sítio.

Em uma modalidade preferencial, o sítio de clivagem destrutiva é reconhecido e clivado por uma segunda protease (isto é, uma protease destrutiva) selecionada entre uma protease circulante (por exemplo, uma protease extracelular, tal como uma protease sérica ou uma protease da cascata de coagulação sanguínea), uma protease tecidual-associada (por exemplo, uma metaloprotease da matriz (MMP), tal como uma MMP de músculo), e uma protease intracelular (preferencialmente uma protease que está ausente da célula-alvo).

Deste modo, na aplicação, caso um polipeptídeo da presente invenção se torne dispersado longe de sua célula-alvo pretendida e/ ou seja absorvido por uma célula-não-alvo, o polipeptídeo se tornará inativado por clivagem do sítio de clivagem destrutiva (pela segunda protease).

Em uma modalidade, o sítio de clivagem destrutiva é reconhecido e clivado por uma segunda protease que está presente dentro de um tipo celular *off-site*. Nesta modalidade, a célula *fora do sítio* e a célula-alvo são preferencialmente tipos celulares diferentes. Alternativamente (ou adicionalmente), o sítio de clivagem destrutiva é reconhecido e clivado por uma segunda protease que está presente em uma localização *off-site* (por exemplo, distal à célula-alvo). Por conseguinte, quando ocorre clivagem destrutiva extracelularmente, a célula-alvo e a célula *off-site* podem ser ou os mesmos tipos celulares ou diferentes. A este respeito, a célula-alvo e a célula *off-site* podem cada possuir um receptor ao qual liga o mesmo polipeptídeo da invenção.

O sítio de clivagem destrutiva da presente invenção proporciona inativação/ destruição do polipeptídeo quando o polipeptídeo está dentro ou em uma localização *off-site*. A este respeito, clivagem no sítio de clivagem destrutiva minimiza a potência do polipeptídeo (em comparação com um polipeptídeo idêntico carecendo do mesmo sítio de clivagem destrutiva, ou

possuindo o mesmo sítio destrutivo mas em uma forma não clivada). A título de exemplo, potência reduzida inclui: ligação reduzida (a um receptor celular de mamífero) e/ ou translocação reduzida (através da membrana endossômica de uma célula de mamífero na direção do citosol), e/ ou reduzida clivagem de proteína SNARE.

Ao selecionar um ou mais sítios de clivagem destrutivos no contexto da presente invenção, é preferencial que o um ou mais sítios de clivagem destrutivos não são substratos para quaisquer proteases que podem ser usadas separadamente para modificação pós- translacional do polipeptídeo da presente invenção como parte de seu processo de fabricação. A este respeito, as proteases não citotóxicas da presente invenção tipicamente empregam um evento de ativação de protease (através de um sítio de clivagem de protease de 'ativação' separado, o qual é estruturalmente distinto do sítio de clivagem destrutiva da presente invenção). A finalidade do sítio de clivagem de ativação é clivar uma ligação de peptídeo entre a protease não citotóxica e os componentes de translocação ou os de ligação do polipeptídeo da presente invenção, deste modo proporcionando um polipeptídeo bicadeia 'ativado' em que os dois componentes referidos são encadeados juntos através de uma ligação di-sulfeto.

Deste modo, para ajudar a assegurar que o um ou mais sítios de clivagem destrutivos dos polipeptídeos da presente invenção não afetam de modo adverso o sítio de clivagem de 'ativação' e subsequente formação de ligação dissulfeto, os precedentes são preferencialmente introduzidos no polipeptídeo da presente invenção em uma posição de no mínimo 20, no mínimo 30, no mínimo 40, no mínimo 50, e mais preferencialmente no mínimo 60, no mínimo 70, no mínimo 80 resíduos aminoácidos (contíguos) fora do sítio de clivagem de 'ativação'.

O um ou mais sítios de clivagem destrutivo e o sítio de clivagem de ativação são preferencialmente exógenos (isto é, manipulados / artificiais) com respeito aos componentes nativos do polipeptídeo. Em outras palavras, os sítios de clivagem referidos preferencialmente não são inerentes aos componentes nativos correspondentes do polipeptídeo. A título de exemplo,

um componente de protease ou de translocação à base de cadeia curta ou cadeia pesada de BoNT/A (respectivamente) pode ser manipulado de acordo com a presente invenção para incluir um sítio de clivagem. O sítio de clivagem referido, no entanto, não estaria presente na cadeia curta ou na cadeia pesada nativa BoNT correspondente. De modo similar, quando o componente da Porção de Direcionamento do polipeptídeo é manipulado para incluir um sítio de clivagem de protease, o sítio de clivagem referido não estaria presente na sequência nativa correspondente da Porção de Direcionamento correspondente.

Em uma modalidade preferencial da presente invenção, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos e o sítio de clivagem de 'ativação' não são clivados pela mesma protease. Em uma modalidade, os dois sítios de clivagem diferem um do outro em que no mínimo um, mais preferencialmente no mínimo dois, de modo particularmente preferencial no mínimo três, e o mais preferencialmente no mínimo quatro dos aminoácidos tolerados dentro das sequências de reconhecimento respectivas é/ são diferentes.

A título de exemplo, no caso de uma quimera de polipeptídeo contendo um sítio de 'ativação' do Fator Xa entre componentes clostridiais de cadeia curta e H_N, é preferencial empregar um sítio de clivagem destrutiva que é um sítio diferente de um sítio de Fator Xa, o qual pode ser inserido alhures na cadeia curta e/ ou H_N e/ ou um ou mais componentes de porção de direcionamento. Neste cenário, o polipeptídeo pode ser modificado para conciliar um sítio de 'ativação' alternativo entre os componentes de cadeia curta e H_N (por exemplo, um sítio de clivagem de enteroquinase), em cujo caso um sítio de clivagem de Fator Xa separado pode ser incorporado alhures dentro do polipeptídeo como o sítio de clivagem destrutiva. Alternativamente, o sítio de 'ativação' de Fator Xa existente entre os componentes de cadeia curta e H_N pode ser retido, e um sítio de clivagem alternativo tal como um sítio de clivagem de trombina incorporado como o sítio de clivagem destrutiva.

Ao identificar sítios adequados dentro da sequência primária de quaisquer dos componentes da presente invenção para inclusão de um ou

mais sítios de clivagem, é preferencial selecionar uma sequência primária que combina intimamente com o sítio de clivagem proposto que deve ser inserido. Ao fazer isso, mínimas alterações estruturais são introduzidas no polipeptídeo. A título de exemplo, sítios de clivagem tipicamente compreendem no mínimo 3 resíduos aminoácidos contíguos. Deste modo, em uma modalidade preferencial, é selecionado um sítio de clivagem que já possui (na posição ou posições corretas) no mínimo um, preferencialmente no mínimo dois dos resíduos aminoácidos que são requeridos de modo a introduzir o novo sítio de clivagem. A título de exemplo, em uma modalidade, pode ser introduzido o sítio de clivagem de Caspase 3 (DMQD). A este respeito, é identificada uma posição de inserção preferencial que já inclui uma sequência primária selecionada entre, por exemplo, Dxxx, xMxx, xxQx, xxxD, DMxx, DxQx, DxxD, xMQx, xMxD, xxQD, DMQx, xMQD, DxQD, e DMxD.

De modo similar, é preferencial introduzir os sítios de clivagem dentro de regiões expostas da superfície. Dentro de regiões expostas da superfície, regiões são preferenciais regiões de loop existentes.

Em uma modalidade preferencial da presente invenção, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos são introduzidos em uma ou mais das seguintes posições, as quais são baseadas na sequência de aminoácidos primária de BoNT/A. Enquanto as posições de inserção são identificadas (por conveniência) por meio de referência a BoNT/A, as sequências de aminoácidos primárias de domínios de protease alternativos e/ ou domínios de translocação podem ser prontamente alinhadas com as posições de BoNT/A referidas.

Para o componente de protease, uma ou mais das posições seguintes é preferencial: 27-31, 56-63, 73-75, 78-81, 99-105, 120-124, 137-144, 161-165, 169-173, 187-194, 202-214, 237-241, 243-250, 300-304, 323-335, 375-382, 391-400, e 413-423. A numeração acima preferencialmente inicia a partir do N-término do componente de protease da presente invenção.

Em uma modalidade preferencial, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos estão localizados em uma posição maior do que 8 resíduos

aminoácidos, preferencialmente maior do que 10 resíduos aminoácidos, mais preferencialmente maior do que 25 resíduos aminoácidos, de modo particularmente preferencial maior do que 50 resíduos aminoácidos a partir do N-término do componente de protease. De modo similar, em uma modalidade preferencial, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos estão localizados em uma posição maior do que 20 resíduos aminoácidos, preferencialmente maior do que 30 resíduos aminoácidos, mais preferencialmente maior do que 40 resíduos aminoácidos, de modo particularmente preferencial maior do que 50 resíduos aminoácidos a partir do C-término do componente de protease.

Para o componente de translocação, uma ou mais das seguintes posições é preferencial: 474-479, 483-495, 507-543, 557-567, 576-580, 618-631, 643-650, 669-677, 751-767, 823-834, 845-859. A numeração acima preferencialmente reconhece uma posição de partida de 449 para o N-término do domínio do componente de translocação da presente invenção, e uma posição de finalização de 871 para o C-término do domínio do componente de translocação.

Em uma modalidade preferencial, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos estão localizados em uma posição maior do que 10 resíduos aminoácidos, preferencialmente maior do que 25 resíduos aminoácidos, mais preferencialmente maior do que 40 resíduos aminoácidos, de modo particularmente preferencial maior do que 50 resíduos aminoácidos a partir do N-término do componente de translocação. De modo similar, em uma modalidade preferencial, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos estão localizados em uma posição maior do que 10 resíduos aminoácidos, preferencialmente maior do que 25 resíduos aminoácidos, mais preferencialmente maior do que 40 resíduos aminoácidos, de modo particularmente preferencial maior do que 50 resíduos aminoácidos a partir do C-término do componente de translocação.

Em uma modalidade preferencial, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos estão localizados em uma posição maior do que 10 resíduos aminoácidos, preferencialmente maior do que 25 resíduos aminoácidos,

mais preferencialmente maior do que 40 resíduos aminoácidos, de modo particularmente preferencial maior do que 50 resíduos aminoácidos do N-término do componente da porção de direcionamento. De modo similar, em uma modalidade preferencial, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos estão localizados em uma posição maior do que 10 resíduos aminoácidos, preferencialmente maior do que 25 resíduos aminoácidos, mais preferencialmente maior do que 40 resíduos aminoácidos, de modo particularmente preferencial maior do que 50 resíduos aminoácidos do C-término do componente da porção de direcionamento.

O polipeptídeo da presente invenção pode incluir um ou mais sítios de clivagem de protease destrutivos (por exemplo, dois, três, quatro, cinco ou mais). Onde mais de um sítio de clivagem destrutiva é incluído, cada sítio de clivagem pode ser o mesmo ou diferente. A este respeito, o uso de mais de um sítio de clivagem destrutiva proporciona aprimorada inativação *off-site*. De modo similar, o uso de dois ou mais sítios de clivagem destrutivos diferentes proporciona adicional flexibilidade de design.

O um ou mais sítios de clivagem destrutivos podem ser manipulados dentro de quaisquer dos seguintes componente ou componentes do polipeptídeo: o componente de protease não citotóxica; o componente de translocação; a Porção de Direcionamento; ou o peptídeo espaçador (caso presente). A este respeito, o um ou mais sítios de clivagem destrutivos são escolhidos para assegurar mínimo efeito adverso sobre a potência do polipeptídeo (por exemplo, tendo mínimo efeito sobre as regiões de direcionamento / ligação e/ ou domínio de translocação, e/ ou sobre o domínio da protease não citotóxica) enquanto assegurando que o polipeptídeo é lábil fora de seu sítio alvo / célula-alvo.

Sítios de clivagem destrutivos preferenciais (mais as segundas proteases correspondentes) são listados na Tabela imediatamente abaixo. Os sítios de clivagem listados são puramente ilustrativos e não se pretende que sejam limitantes à presente invenção.

Segunda protease	Sequência de reconhecimento de sítio de clivagem destrutiva	Variância da sequência de reconhecimento tolerada P4-P3-P2-P1-▼-P1'-P2'-P3'						
		P4	P3	P2	P1	P1'	P2'	P3'
Trombina	LVPR▼GS	A,F,G,I,L,T,V ou M	A,F,G,I,L,T,V ,W ou A	P	R	Não D ou E	Não D ou E	---
Trombina	GR▼G			G	R	G		
Fator Xa	IEGR▼	A,F,G,I,L,T,V ou M	D ou E	G	R	---	---	---
ADAM17	PLAQA▼VRSSS							
Protease semelhante a tripsina das vias aéreas humanas (HAT)	SKGR▼SLIGRV							
ACE (peptidil-dipeptidase A)		---	---	---	---	Não P	Não D ou E	N/A
Elastase (leucócito)	MEA▼VTY	M, R	E	A, H	V, T	V, T, H	Y	---
Furin	RXR/KR▼	R	X	R ou K	R			
Granzyme	IEPD▼	I	E	P	D	---	---	---
Caspase 1		F,W,Y,L	---	H,A,T	D	Não P,E.D.Q.K ou R	---	---
Caspase 2	DVAD▼	D	V	A	D	Não P,E.D.Q.K ou R	---	---
Caspase 3	DMQD▼	D	M	Q	D	Não P,E.D.Q.K ou R	---	---
Caspase 4	LEVD▼	L	E	V	D	Não P,E.D.Q.K ou R	---	---
Caspase 5		L ou W	E	H	D	---	---	---
Caspase 6		V	E	H ou I	D	Não P,E.D.Q.K ou R	---	---
Caspase 7	DEVD▼	D	E	V	D	Não P,E.D.Q.K ou R	---	---
Caspase 8		I ou L	E	T	D	Não P,E.D.Q.K ou R	---	---
Caspase 9	LEHD▼	L	E	H	D	---	---	---
Caspase 10	IEHD▼	I	E	H	D	---	---	---

Metaloproteases da matriz (MMPs) são um grupo preferencial de proteases destrutivas no contexto da presente invenção. Dentro deste grupo, ADAM17 (EC 3.4.24.86, também conhecida como TACE), é preferencial e cliva uma variedade de proteínas da superfície celular ancoradas à membrana, para "perder" os domínios extracelulares. Metaloproteases da matriz adicionais preferenciais incluem adamalisinas, serralisinas, e astacinas.

Outro grupo de proteases destrutivas preferenciais é uma protease do sangue de mamífero, tal como Trombina, Fator de Coagulação VIIa, Fator de Coagulação IXa, Fator de Coagulação Xa, Fator de Coagulação XIa, Fator de Coagulação XIIa, Calicreína, Proteína C, e protease serina MBP-associada.

Em uma modalidade da presente invenção, o referido sítio de clivagem destrutiva compreende uma sequência de reconhecimento tendo no mínimo 3 ou 4, preferencialmente 5 ou 6, mais preferencialmente 6 ou 7, e de modo particularmente preferencial no mínimo 8 resíduos aminoácidos contíguos. A este respeito, quanto mais longa (em termos de resíduos aminoácidos contíguos) a sequência de reconhecimento, será menos provável ocorrer clivagem inespecífica do sítio destrutivo através de uma segunda protease não pretendida.

É preferencial que o sítio de clivagem destrutiva da presente invenção seja introduzido dentro do componente de protease e/ ou a Porção de Direcionamento e/ ou dentro do componente de translocação e/ ou dentro do peptídeo espaçador. Destes quatro componentes, o componente de protease é preferencial. Por conseguinte, o polipeptídeo pode ser rapidamente inativado por destruição direta dos componentes de protease não citotóxica e/ ou de ligação e/ ou de translocação.

Liberação de polipeptídeos

Na aplicação, a presente invenção emprega uma composição farmacêutica, compreendendo um polipeptídeo, junto com no mínimo um componente selecionado entre um veículo, excipiente, adjuvante, propelente e/ ou sal farmaceuticamente aceitável.

Os polipeptídeos da presente invenção podem ser formulados

para aplicação oral, parenteral, infusão contínua, implante, inalação ou aplicação tópica. Composições adequadas para injeção podem estar sob a forma de soluções, suspensões ou emulsões, ou pós secos os quais são dissolvidos ou suspendidos em um veículo adequado antes do uso.

Meios de liberação local podem incluir um aerosol, ou outro spray (por exemplo, um nebulizador). A este respeito, uma formulação de aerosol de um polipeptídeo possibilita liberação para os pulmões e/ou outras passagens nasais e/ou bronquiais ou das vias aéreas.

A via de administração preferencial é selecionada entre: sistêmica (por exemplo, iv), laparoscópica e/ ou injeção localizada (por exemplo, injeção transesfenoidal diretamente dentro do tumor).

No caso de formulações para injeção, é opcional incluir uma substância farmaceuticamente ativa para auxilitar a retenção em ou reduzir a remoção do polipeptídeo do sítio de administração. Um exemplo de uma substância farmaceuticamente ativa semelhante é um vasoconstritor tal como adrenalina. Uma formulação semelhante confere a vantagem de aumentar a duração da permanência do polipeptídeo depois da administração e deste modo aumentando e/ou reforçando seu efeito.

As faixas de dosagem para administração dos polipeptídeos da presente invenção são aquelas para produzir o efeito terapêutico desejado. Será reconhecido que a faixa de dosagen requerida depende da natureza precisa do polipeptídeo ou composição, da via de administração, da natureza da formulação, da idade do paciente, da natureza, extensão ou gravidade da condição do paciente, contraindicações, se houver, e do critério do médico assistente. Variações nestes níveis de dosagem podem ser ajustadas usando rotinas empíricas-padrão para otimização.

Dosagens diárias adequadas (por kg de peso do paciente) estão na faixa de 0,0001 a 1 mg/kg, preferencialmente de 0,0001 a 0,5 mg/kg, mais preferencialmente de 0,002 a 0,5 mg/kg, e de modo particularmente preferencial de 0,004 a 0,5 mg/kg. A unidade de dosagem pode variar a partir de menos de 1 micrograma até 30 mg, mas tipicamente estará na região de 0,01 a 1 mg por dose, a qual pode ser administrada diariamente ou prefe-

rencialmente com menos frequência, tal como semanalmente ou a cada seis meses.

Um regime de dosagem particularmente preferencial se baseia em 2,5 ng de polipeptídeo como a 1X dose. A este respeito, dosagens preferenciais estão na faixa de 1X a 100X (isto é, 2,5 a 250 ng).

Formas de dosagens de fluido são tipicamente preparadas utilizando o polipeptídeo e um veículo estéril livre de pirogênio. O polipeptídeo, dependendo do veículo e da concentração usados, pode ser quer dissolvido ou suspendido no veículo. Ao preparar soluções o polipeptídeo pode ser dissolvido no veículo, a solução sendo tornada isotônica caso necessário por adição de cloreto de sódio e esterilizada por filtração através de um filtro estéril usando técnicas assépticas antes de preenchimento dentro de frascos estéreis ou ampolas adequados e vedação. Alternativamente, se a estabilidade da solução for adequada, a solução dentro de seus recipientes selados pode ser esterilizada por autoclave. Vantajosamente aditivos tais como agentes de tamponamento, solubilizantes, estabilizantes, preservantes ou bactericidas, de suspensão ou emulsificantes e ou agentes anestésicos locais podem ser dissolvidos no veículo.

Pós secos, os quais são dissolvidos ou suspendidos em um veículo adequado antes do uso, podem ser preparados enchendo ingredientes pré-esterilizados dentro de um recipiente estéril usando técnica asséptica em uma área estéril. Alternativamente os ingredientes podem ser dissolvidos dentro de recipientes adequados usando técnica asspticá em uma área estéril. O produto é em seguida secado por congelamento e os recipientes são seleados assepticamente.

Suspensões parenterais, adequadas para injeção intramuscular, subcutânea ou intradérmica, são preparadas em substancialmente a mesma maneira, exceto que os componentes estéreis são suspendidos no veículo estéril, ao invés de serem dissolvidos e esterilização não pode ser realizada por filtração. Os componentes podem ser isolados em um estado estéril ou alternativamente podem ser esterilizados depois de isolamento, por exemplo, por irradiação gama.

Vantajosamente, um agente de suspensão, por exemplo, polivinilpirrolidona, é incluído na composição ou composições para facilitar a distribuição uniforme dos componentes.

Seção de Definições

Porção de Direcionamento (TM) significa qualquer estrutura química que interage funcionalmente com um Sítio de Ligação para causar uma associação física entre o polipeptídeo da invenção e a superfície de uma célula-alvo (tipicamente uma célula de mamífero, especialmente uma célula humana). O termo porção de direcionamento engloba qualquer molécula (isto é, uma molécula que ocorre naturalmente, ou uma variante quimicamente/ fisicamente modificada da mesma) que é capaz de ligação a um Sítio de Ligação sobre a célula-alvo, cujo Sítio de Ligação é capaz de internalização (por exemplo, formação de endossoma) - também referida como endocitose mediada por receptor. A porção de direcionamento pode possuir uma função de translocação da membrana endossômica, em cujo caso componentes da porção de direcionamento e do Domínio de Translocação separados não precisam estar presentes em um agente da presente invenção. Do início ao fim da precedente descrição, foram descritas porções de direcionamento específicas. Referência às porções de direcionamento referidas é meramente exemplar, e a presente invenção engloba todas as variantes e derivados das mesmas, os quais possuem uma capacidade de ligação básica (isto é, direcionamento) para um Sítio de Ligação sobre a célula tumoral neuroendócrina, em que o Sítio de Ligação é capaz de internalização.

A porção de direcionamento da presente invenção liga (de modo especificamente preferencial liga) à célula-alvo em questão. o termo "liga especificamente" preferencialmente significa que uma dada porção de direcionamento liga à célula-alvo (por exemplo, a um receptor de SST) com uma afinidade de ligação (Ka) de 10^6 M^{-1} ou superior, preferencialmente 10^7 M^{-1} ou superior, ou 10^8 M^{-1} ou superior, ou 10^9 M^{-1} ou superior. As porções de direcionamento da presente invenção (quando em uma forma livre, a saber quando separada de qualquer protease e/ ou componente de translocação),

preferencialmente demonstram uma afinidade de ligação (IC_{50}) para o receptor alvo em questão (por exemplo, um receptor de SST) na região de 0,05 a 18 nM.

A porção de direcionamento da presente invenção é preferencialmente não aglutinina de germe de trigo (WGA).

Referência a porção de direcionamento (TM) na presente especificação engloba fragmentos e variantes dos mesmos, os quais conservam a capacidade para ligar à célula-alvo em questão. A título de exemplo, uma variante pode ter no mínimo 80%, preferencialmente no mínimo 90%, mais preferencialmente no mínimo 95%, e o mais preferencialmente no mínimo 97 ou no mínimo 99% de homologia da sequência de aminoácidos com a porção de direcionamento de referência – a última é qualquer sequência de porção de direcionamento mencionada no presente requerimento. Deste modo, uma variante pode incluir um ou mais análogos de um aminoácido (por exemplo, um aminoácido não natural), ou uma ligação substituída. Além disso, a título de exemplo, o termo fragmento, quando usado em relação com uma porção de direcionamento, significa um peptídeo tendo no mínimo cinco, preferencialmente no mínimo dez, mais preferencialmente no mínimo vinte, e o mais preferencialmente no mínimo vinte e cinco resíduos aminoácidos da porção de direcionamento de referência. O termo fragmento também se refere às variantes mencionadas acima. Deste modo, a título de exemplo, um fragmento da presente invenção pode compreender uma sequência de peptídeos tendo no mínimo 7, 10, 14, 17, 20, 25, 28, 29, ou 30 aminoácidos, em que a sequência de peptídeos tem no mínimo 80% de homologia de sequência em relação a uma sequência de peptídeos correspondente de aminoácidos (contíguos) do peptídeo de referência.

A título de exemplo, somatostatina (SST) e cortistatina (CST) têm alta homologia estrutural, e ligam a todos os receptores de SST conhecidos. SST de extensão total tem a sequência de aminoácidos:

MLSCRLQCALAALSIVLALGCVTINTERVALOSDPRLRQFLQKS
LAAAAGKQELAKYFLAELLSEPNQTENDALEPEDLSQAAEQDEMRLELQRS
ANSNPAMAPRERKAGCKNFFWKTFTSC

CST de extensão total tem a sequência de aminoácidos:

MYRHKNSWRLGLKYPPSSKEETQVPKTLISGLPGRKSSSRVG EKLQSAHKMPLSPGLLLLLLSGATATAALPLEGGPTGRDSEHMQEAAGIRK SSLLTFLAWWFEWTSQASAGPLIGEEAREVARRQEINTERVALOPQQSAR RDRMPCRNFFWKTFSSCK

Referência a estas porções de direcionamento inclui os seguintes fragmentos (e variantes correspondentes) das mesmas:

NFFWKTF;

(R ou K)NFFWKTF;

C(R ou K)NFFWKTF;

(P ou G)C(R ou K)NFFWKTF;

NFFWKTF(S ou T);

NFFWKTF(S ou T)S;

NFFWKTF(S ou T)SC;

(R ou K)NFFWKTF(S ou T);

(R ou K)NFFWKTF(S ou T)S;

(R ou K)NFFWKTF(S ou T)SC;

C(R ou K)NFFWKTF(S ou T);

C(R ou K)NFFWKTF(S ou T)S;

C(R ou K)NFFWKTF(S ou T)SC;

(P ou G)C(R ou K)NFFWKTF(S ou T);

(P ou G)C(R ou K)NFFWKTF(S ou T)S; or

(P ou G)C(R ou K)NFFWKTF(S ou T)C.

Com respeito às sequências acima, onde é dado um (P ou G) alternativo, um P é preferencial no caso de uma porção de direcionamento de CST, ao passo que um G é preferencial no caso de uma porção de direcionamento de SST. Onde é dado um (R ou K) alternativo, um R é preferencial no caso de uma porção de direcionamento de CST, ao passo que um K é preferencial no caso de uma porção de direcionamento de SST. Onde é dado um (S ou T) alternativo, um S é preferencial no caso de uma porção de direcionamento de CST, ao passo que um T é preferencial no caso de uma porção de direcionamento de SST.

Fragmentos preferenciais compreendem no mínimo 7 ou no mínimo 10 resíduos aminoácidos, preferencialmente no mínimo 14 ou no mínimo 17 resíduos aminoácidos, e mais preferencialmente no mínimo 28 ou 29 resíduos aminoácidos. A título de exemplo, sequências preferenciais incluem: SANSNPAMAPRERKAGCKNFFWKTFTSC (SST-28); AGCKNFFWKTFTSC (SST-14); QEINTERVALOPQQSARRDRMPCRNFFWKTFSSCK (CST-29); QERPPLQQPPHRDKKPCKNFFWKTFSSCK (CST-29); QERPPPQQPPHLDKKPCKNFFWKTFSSCK (CST-29); DRMPCRNFFWKTFSSCK (CST-17); PCRNFFWKTFSSCK (CST-14); e PCKNFFWKTFSSCK (CST-14).

A porção de direcionamento pode compreender uma sequência de aminoácidos mais longa, por exemplo, no mínimo 30 ou 35 resíduos aminoácidos, ou no mínimo 40 ou 45 resíduos aminoácidos, na medida que a porção de direcionamento seja capaz de ligar a uma célula tumoral neuroendócrina, preferencialmente a um SST ou a um CST receptor sobre uma célula tumoral neuroendócrina. A este respeito, uma porção de direcionamento é preferencialmente um fragmento de extensão total SST ou CST, embora incluindo no mínimo a sequência de núcleo"NFFWKTF" ou uma das sequências de aminoácidos primárias definidas acima.

A título de exemplo adicional, peptídeos GHRH da presente invenção incluem: YADAIFTASYRKVLGQLSARKLLQDILSR; YADAIFTASYRNVLGQLSARKLLQDILSR; YADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQDIM; YADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMS; ADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMSRQQGESNQERGARARL; YADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMSRQQGESNQERGA; YADAIFTNAYRKVLGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTNSYRKVLGQLSARKALQDIMSR; YADAIFTASYKKVLGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTASYKRVLGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTASYNKVLGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTASYRKVLGQLSAKKLLQDIMSR; YADAIFTASYKKVLGQLSAKKLLQDIMSR; YADAIFTASYRKVLGQLSANKLLQDIMSR; YADAIFTASYRNVLGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTASYRKVLGQLSARNLLQDIMSR; YADAIFEASYRKVLGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTASERKVLGQLSARKLLQDIMSR; YA-

DAIFTASYRKELGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTASYRKVLGQLSARKL-LQDIMSR; YADAIFTESYRKVLGQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTNSYRK-VLAQLSARKLLQDIM; YADAIFTNSYRKVLAQLSARKLLQDIMSR; YADAIF-TASYRKVLAQLSARKLLQDIMSR; YADAIFTAAYRKVLAQLSARKALQDI-ASR; YADAIFTAAYRKVLAQLSARKALQDIMSR; HVDAIFTQSYRKVLAQL-SARKLLQDILNRQQGERNQEQGA; HVDAIFTQSYRKVLAQLSARKALQ-DILSRQQG; HVDAIFTSSYRKVLAQLSARKLLQDILSR; HVDAIFTTSYRK-VLAQLSARKLLQDILSR; YADAIFTQSYRKVLAQLSARKALQDILNR; YA-DAIFTQSYRKVLAQLSARKALQDILSR.

É rotina para confirmar que uma porção de direcionamento liga à célula-alvo selecionada. Por exemplo, um simples experimento de deslocamento radioativo pode ser empregado no qual tecido ou células representativas de uma célula tumoral neuroendócrina são expostos a porção de direcionamento marcada (por exemplo, tritiada) na presença de um excesso de porção de direcionamento não marcada. Em um experimento semelhante, as proporções relativas de ligação inespecífica e específica podem ser avaliadas, deste modo permitindo confirmação de que a porção de direcionamento liga à célula-alvo. Opcionalmente, o ensaio pode incluir um ou mais antagonistas de ligação, e o ensaio pode compreender adicionalmente observar uma perda de ligação de porção de direcionamento. Exemplos deste tipo de experimento podem ser encontrados em Hulme, E.C. (1990), *Receptor-binding studies, a brief outline*, pp. 303-311, In Receptor biochemistry, A Practical Approach, Ed. E.C. Hulme, Oxford University Press.

No contexto da presente invenção, referência a uma porção de direcionamento de peptídeo (por exemplo, peptídeo de SST, peptídeo de CST, ou peptídeo de GHRH, etc) engloba análogos peptídicos das mesmas, na medida que a porção de direcionamento análoga ligue ao mesmo receptor que a porção de direcionamento de 'referência' correspondente. Os análogos referidos podem incluir resíduos sintéticos tais como: ß-Nal = ß-naftilalanina; ß-Pal = ß –piridilalanina; hArg(Bu) = N-guanidino-(butil)-homoarginina; $hArg(Et)_2$ = N, N'-guanidino-(dimetil)-homoarginina; $hArg(CH_2CF_3)_2$ = N, N'-guanidino-bis-(2,2,2,-trifluoroetil)-homoarginina;

hArg(CH_3, hexil) = N, N'-guanidino-(metil, hexil)- homoarginina; Lys(Me) = N^e-metillisina; Lys(iPr) = N^e-isopropillisina; AmPhe = aminometilfenilalanina; AChxAla = aminociclo-hexilalanina; Abu = ácido α-aminobutírico; Tpo = 4-tiaprolina; MeLeu = N-metil-leucina; Orn = ornitina; Nle – norleucina; Nva = norvalina; Trp(Br) = 5-bromo-triptofano; Trp(F) = 5-flúor-triptofano; Trp($N0_2$) = 5-nitro-triptofano; Gaba = ácido γ-aminobutírico; Bmp = J-mercaptopropionila; Ac = acetil; e Pen = pencilamina

A título de exemplo, o aspecto do análogo peptídico acima é descrito em mais detalhes com referência a porções de direcionamento de peptídeos específicos, tais como peptídeos de SST, peptídeos de GHRH, peptídeos de bombesina, peptídeos de grelina, GnRH (peptídeos aka LH-RH), e peptídeos de urotensina, embora o mesmo princípio se aplique a todas as porções de direcionamento da presente invenção.

Análogos de somatostatina, os quais podem ser usados para praticar a presente invenção, incluem, mas não estão limitados a, os descritos nas seguintes publicações, as quais são por este incorporadas por meio de referência: Van Binst, G. *et al.* Peptide Research 5: 8 (1992); Horvath, A. *et al.* Abstract, "Conformations of Somatostatin Análogos Having Antitumor Activity", 22nd European Peptide Symposium, September 13-19,1992, Interlaken, Suíça; PPatente dos Estados Unidos No. US 5.506.339; Patente Européia No. EP0363589; Patente dos Estados Unidos No. US 4.904.642; Patente dos Estados Unidos No. US 4.871.717; Patente dos Estados Unidos No. US 4.725.577; Patente dos Estados Unidos No. US 4.684.620; Patente dos Estados Unidos No. US 4.650.787; Patente dos Estados Unidos No. US 4.585.755; Patente dos Estados Unidos No. US 4.725.577; Patente dos Estados Unidos No. US 4.522.813; Patente dos Estados Unidos No. US 4.369.179; Patente dos Estados Unidos No. US 4.360.516; Patente dos Estados Unidos No. US 4.328.214; Patente dos Estados Unidos No. US 4.316.890; Patente dos Estados Unidos No. US 4.310.518; Patente dos Estados Unidos No. US 4.291.022; Patente dos Estados Unidos No. US 4.238.481; Patente dos Estados Unidos No. US 4.235.886; Patente dos Estados Unidos No. US 4.211.693; Patente dos Estados Unidos No. US

4.190.648; Patente dos Estados Unidos No. US 4.146.612; Patente dos Estados Unidos No. US 4.133.782; Patente dos Estados Unidos No. US 5.506.339; Patente dos Estados Unidos No. US 4.261.885; Patente dos Estados Unidos No. US 4.282.143; Patente dos Estados Unidos No. US 4.190.575; Patente dos Estados Unidos No. US 5.552.520; Patente Européia No. EP0389180; Patente Européia No. EP0505680; Patente dos Estados Unidos No. US 4.603.120; Patente Européia No. EP0030920; Patente dos Estados Unidos No. US 4.853.371; Publicação de Patente Internacional No. WO 90/12811; Publicação de Patente Internacional No. WO 97/01579; Publicação de Patente Internacional No. WO 91/18016; Publicação de Patente Internacional No. WO 98/08529 e Publicação de Patente Internacional No. WO 98/08528; Publicação de Patente Internacional No. WO /0075186 e Publicação de Patente Internacional No. WO 00/06185; Publicação de Patente Internacional No. WO 99/56769; e patente francesa No. FR 2.522.655.

Análogos preferenciais incluem: ciclo(N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe) ou H-D-ß-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H-Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-NH2; H-Cys-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-NH2; H-Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys-NH2; H-Cys-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-NH2; H-Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-NH2; H-Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-NH2; H-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-NH2; H-D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-THr-NH2; H-Cys-Phe-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-NH2; H-D-Phe-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2, H-D-Phe-p-NO2-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2, H-D-ß-Nal-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2, H-D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2, H-D-Phe-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2, H-D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-ß-Nal-NH2; H-D-ß-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-ß-Nal-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-ß-Nal-NH2; H-D-ß-Nal-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr-OH; H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr-OH; H-Gly-Pen-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH; H-Phe-Pen-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-OH; H-Phe-Pen-

Phe-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr-OH; H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-ol; H-D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H-D-Trp-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H-D-Trp-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Trp-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; Ac-D-Phe-Lys*-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Asp*-Thr-NH2 (uma ponte amida formada entre Lys* e Asp*); Ac-hArg (Et) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (Et) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (Bu)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (Et) 2-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-L-hArg (Et) 2-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (CH2CF3) 2-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (CH2CF3) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (CH2CF3) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Phe-NH2; Ac-D-hArg (CH2CF3) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NHEt; Ac-L-hArg (CH2-CF3) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (CH2CF3) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys (Me)-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (CH2CF3) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys (Me)-Thr-Cys-Thr-NHEt; Ac-hArg (CH3, hexil)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H-hArg (hexil2)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (Et) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NHEt; Ac-D-hArg (Et) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Phe-NH2; Propionil-D-hArg (Et) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys (iPr)-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-ß-Nal-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Gly-hArg (Et) 2-NH2; Ac-D-Lys (iPr)-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; Ac-D-hArg (CH2CF3) 2-D-hArg (CH2CF3) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr- Cys- Thr-NH2; Ac-D-hArg (CH2CF3) 2-D-hArg (CH2CF3) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr- Cys- Phe-NH2; Ac-D-hArg (Et) 2-D-hArg (Et) 2-Gly-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; c-Cys-Lys-Asn-4-Cl-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Ser-D-Cys-NH2; H-Bmp-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H-Bmp-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Phe-NH2; H-Bmp-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-p-Cl-Phe-NH2; H-Bmp-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-p-Nal-NH2; H-D-ß-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; H-pentaflúor-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-

NH2; Ac-D-ß-Nal-Cys-pentaflúor-Phe-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H-D-i-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-p-Nal-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-ß-Nal-NH2; H-D-, SNal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; H-D-p-Cl-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; Ac-D-p-Cl-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-p-Nal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys-Thr-NH2; ciclo (Pro-Phe-D-Trp-N-Me-Lys-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-D-Trp-N-Me-Lys-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-N-Me-Phe); ciclo (N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe); ciclo (Pro-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-L-Trp-Lys-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-D-Trp (F)-Lys-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-Trp (F)-Lys-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-D-Trp-Lys-Ser-Phe); ciclo (Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-p-Cl-Phe); ciclo (D-Ala-N-Me-D-Phe-D-Thr-D-Lys-Trp-D-Phe); ciclo (D-Ala-N-Me-D-Phe-D-Val-Lys-D-Trp-D-Phe); ciclo (D-Ala-N-Me-D-Phe-D-Thr-Lys-D-Trp-D-Phe); ciclo (D-Abu-N-Me-D-Phe-D-Val-Lys-D-Trp-D-Tyr); ciclo (Pro-Tyr-D-Trp-t-4-AchxAla-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-D-Trp-t-4-AchxAla-Thr-Phe); ciclo (N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe); ciclo (N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-t-4-AchxAla-Thr-Phe); ciclo (Pro-Tyr-D-Trp-4-Amphe-Thr-Phe); ciclo (Pro-Phe-D-Trp-4-Amphe-Thr-Phe); ciclo (N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-4-Amphe-Thr-Phe); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba-Gaba); ciclo (Asn-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-NH (CH2) 4CO); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe->Ala); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-D-Glu)-OH; ciclo (Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe); ciclo (Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gly); ciclo (Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gly); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp (F)-Lys-Thr-Phe-Gaba); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp (NO2)-Lys-Thr-Phe-Gaba); ciclo (Asn-Phe-Phe-Trp (Br)-Lys-Thr-Phe-Gaba); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe (I)-Gaba); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Tyr (But)-Gaba); ciclo (Bmp-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Pro-Cys)-OH; ciclo (Bmp-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Pro-Cys)-OH; ciclo (Bmp-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-Tpo-Cys)-OH; ciclo (Bmp-Lys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-MeLeu-Cys)-OH; ciclo (Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Phe-Gaba); ciclo (Phe-Phe-D-Trp-Lys-

Thr-Phe-D-Phe-Gaba); ciclo (Phe-Phe-D-Trp (5F)-Lys-Thr-Phe-Phe-Gaba); ciclo (Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys (Ac)-Thr-Phe-NH- (CH2) 3-CO); ciclo (Lys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba); ciclo (Lys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba); ciclo (Orn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Gaba); H-Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-NH2; H-Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys-NH2; H-Cys-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-NH2; H-Cys-Phe-Tyr (I)-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys-NH2.

Métodos para sintetizar análogos são bem documentados, conforme ilustrado, por exemplo, pelas patentes citadas acima. Por exemplo, síntese de H-D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2, pode ser realizada seguindo o protocolo estipulado no Exemplo 1 do requerimento de Patente Européia No. EP 0395417A1. De modo similar, a síntese de análogos com um N-término substituído pode ser realizada, por exemplo, seguindo o protocolo demonstrado na Publicação de Patente Internacional No. WO 88/02756, na Patente Européia No. EP 0329295, e na Patente dos Estados Unidos No. US 5.240.561.

Exemplos preferenciais de análogos lineares incluem: H-D-Phe-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; H-D-Phe-p-N02-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H-D-*Nal-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H-D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; H-D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H-D-Phe-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; e H-D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-D-beta-Nal-NH2.

Uma ou mais porções químicas, por exemplo, um derivado de açúcar, grupamentos mono ou poli-hidróxi (C2-12) alquil, mono ou poli-hidróxi (C2-12) acila, ou um derivado de piperazina, podem ser anexadas a um análogo de SST, por exemplo, ao aminoácido do N-término - vide a Publicação de Patente Internacional No. WO 88/02756, a Patente Européia No. EP0329295, e a Patente dos Estados Unidos No. US 5.240.561.

Exemplos adicionais de análogos de que podem ser usados como uma porção de direcionamento na presente invenção incluem os seguintes: D-Cpa-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; D-Phe-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; D-Phe-ciclo[Cys-p-NH2-Phe-D-Trp-Lys-Val-

Cys]-Thr-NH2; N-Me-D-Phe-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; D-Phe-ciclo[Cys-Tyr-D-Pal-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; Ac-D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; D-Phe-ciclo [Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Nal-NH2; D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Nal-NH2; D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-OH; ED-Phe-ciclo[Cys-Nal-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Nal-Lys-Val-Cys]-Nal-NH2; D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-D-Cys]-Nal-NH2; D-Trp-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Nal-NH2; D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-D-Nal-NH2; Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-D-Nal-NH2; (AcO-CH2)3-C-NH-CO-(CH2)2-CO-D-Nal-ciclo(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]Thr-NH2; [3-O-(2,5,6-triacetil ascórbico)acetil-D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Trp-NH2; Phe-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Trp-NH2; 3-O-(ascórbico)-butrirl-D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; 3-O-(ácido ascórbico)Ac-D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; D-Bpa-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Nal-NH2; D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Bpa-NH2; Tris-Suc-D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; D-Dpa-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Nal-NH2; D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Dpa-NH2; Ac-D-Nal-ciclo[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; ciclo-[Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys]-Thr-NH2; NmeCpa-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-Lys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(NMeDCys-3-Pal-DTrp-Lys-Thr-Cys)-2-Nal-NHMe; Cpa-ciclo (DCys-NMe3-Pal-DTrp-Lys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-NMeDTrp-Lys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-DTrp-Lys-NMeThr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-Lys-Thr-NMeCys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-Lys-Thr-Cys)-Nme2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(NMeDCys-3-Pal-DTrp-Lys-Thr-Cys)-Dip-NHMe; Cpa-ciclo (DCys-3-Pal-NMeDTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-Tyr-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Tfm-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-DTrp-NH2; Nal-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-DTrp-NH2; 3-Pal-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-DTrp-NH2; NmeCpa-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-Lys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-

DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-NMeDTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo (DCys-Tyr-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-DTrp-NH2; Nal-ciclo (DCys-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-DTrp-NH2; ou 3-Pal-ciclo(DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-DTrp-NH2; NmeCpa-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-Lys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo (DCys-3-Pal-NMeDTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo (DCys-Tyr-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; ou Cpa-ciclo(DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-DTrp-NH2; Cpa-ciclo (DCys-3-Pal-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; Cpa-ciclo(DCys-Tyr-DTrp-NMeLys-Thr-Cys)-2-Nal-NH2; ácido metilpropiônico-Tyr-D-Trp- ys-Val-Cys-Thr-NH_2; ácido metil-propiônico-Tyr-D-Trp- ys-Val-Cys-Phe-NH_2; ácido metilpropiônico-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-p-Cl-Phe-NH2; ácido metilpropiônico-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-β-Nal-NH_2; D-Phe-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; D-Phe-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-val-Phe-Thr-NH2; D-Phe-p-cloro-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH_2; ou D-Phe-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Ala-β-D-Nal-NH_2; H_2-c[Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Phe-Trp-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, ou H_2-c[Cys-Phe-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Phe-Trp-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Phe-Trp-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Phe-His-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Phe-His-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Phe-Trp-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Phe-His-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Phe-His-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Phe-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Phe-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, ou H_2-c[D-Cys-Phe-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Asn-Phe-Trp-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c [D-Cys-Asn-Phe-Trp-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c [Cys-Asn-Phe-His-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Asn-Phe-His-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Asn-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Asn-Phe-Trp-

D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[D-Cys-Asn-Phe-Trp-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c [Cys-Asn-Phe-His-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c [D-Cys-Asn-Phe-His-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c [Cys-Asn-Phe-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c [D-Cys-Asn-Phe-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c [Cys-Asn-Phe-Tyr(I)-D-rp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c [D-Cys-Asn-Phe-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Ser-Phe-Cys]-NH_2, H_2-c[Cys-Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Cys]-NH_2; Ac-D-Phe-Tyr-ciclo (D-Cys-D-Trp-Lys-Cys)-Abu-Thr-NH2; Nal-Tyr-ciclo(Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Val-Nal-NH2; Nal-Tyr-ciclo(Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Abu-Nal-NH2; D-Dip-Tyr-ciclo(Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Abu-Nal-NH2; Dip-Tyr-ciclo (D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Abu-Nal-NH2; Nal-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Abu-Nal-NH2; Dip-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Val-Nal-NH2; Nal-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Val-Nal-NH2; ciclo(D-Phe-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-Cys)-Abu-Thr); Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A3c-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A5c-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A6c-Nal-NH2; (G(z))aeg-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A5c-Nal-NH2; Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A5c-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-ß-Ala-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Sar-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Gaba-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Pro-Nal-NH2; Pro-Phe-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Nle-Phe-NH2; Pro-Phe-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr-Nle-NH2; Pro-Phe-c (D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr-Phe-NH2; Cpa-Phe-c (D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Gaba-NH2 ; Cpa-Phe-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Gaba-Tyr-NH2; Pip-Phe-c (D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-NH2; Pip-Phe-c (Cys-D-Trp-Lys-Cys)-Gaba-NH2; ou Pro-Phe-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr-NH2; Phe-ciclo(Cys-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-NH2; Phe-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-Cys)-Abu-Thr-NH2; Ac-D-Phe-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-Cys)-Abu-Thr-NH2; Nal-Tyr-ciclo(Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Val-Nal-NH2; Nal-Tyr-ciclo(Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Abu-Nal-NH2; Dip-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Abu-Nal-NH2; Nal-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Abu-Nal-NH2; Dip-Tyr-ciclo (D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Val-Nal-NH2; Nal-Tyr-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Val-Nal-NH2, Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A3c-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-

Cys)-A5c-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A6c-Nal-NH2; (G(z))aeg-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A5c-Nal-NH2; D-Cpa-ciclo(Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A5c-Nal-NH2; Pal-ciclo (D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A5c-Nal-NH2; Cpa-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A5c-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-ß-Ala-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Sar-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Aic-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Gaba-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Pro-Nal-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-(A)aeg-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-A4c-Nal-NH2; Cpa-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Nal-NH2; Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Nal-NH2; Pro-Phe-ciclo(Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Val-NH2; Pro-Phe-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-Cys)-Val-NH2; Pip-4-NO2-Phe-ciclo(D-cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Nle-NH2; (G)aeg-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-(C)aeg-NH2; ou (C)aeg-Pal-ciclo(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr (Bzl)-(G)aeg-NH2; Nal-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; D-Nal-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; D-Phe-ciclo(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-NH2, D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; Ac-D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; D-4-NO2-Phe-Pal-ciclo(D-Cys-Phe (4-O-Bzl)-D-Trp-Lys-Cys)-Tyr-NH2; Cpa-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-Tyr-NH2; D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-NH2; D-4-NO2-Phe-ciclo (D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; 4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; D-Nal-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Pro-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Cpa-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Nal-NH2; Ser(Bzl)-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (A)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (G)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-4-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-(T)aeg-D-Trp-Lys-Cys)-Thr (Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-

Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Ser(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Phe(4-O-Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-A5c-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Abu-Tyr-NH2; D-Cpa-ciclo(D-Cys-(T)aeg-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (C)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; D-Cpa-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(Pen-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Trp-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Orn-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-hLys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-lamp-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Cha(4-am)-D-Cys) Thr (Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Ser(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-D-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys) Thr (Bzl)-Trp-NH2; (T) aeg-c (D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Pen)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (C)aeg-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Ina-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Mnf-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Inp-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)-thr(Bzl)-Tyr-NH2; Nua-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-Pal-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-Pal-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)Tyr(Bzl)-Thr-NH2; (C)aeg-Phe-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys) Thr(Bzl)-Tyr-NH2; ou (T)aeg-D-Trp-c(D-Cys-Pal-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Leu-NH2; Hca-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; Ac-Nal-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; Ac-D-Phe-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; Ac-D-Nal-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; D-Phe-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; Nal-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; D-Nal-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; D-Phe-ciclo(Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-NH2; D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; Ac-D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Nal-NH2; D-4-NO2-Phe-Pal-ciclo(D-Cys-Phe(4-O-Bzl)-D-Trp-Lys-Cys)-Tyr-NH2; D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Cpa-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-NH2; D-4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr (Bzl)-Tyr-NH2; D-4-NO2-

Phe-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; 4-NO2-Phe-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; D-Nal-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr (Bzl)-Tyr-NH2; Pro-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Cpa-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Nal-NH2; Ser(Bzl)-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (C)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Aic-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (C(z))aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (A(z))aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (A)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (G)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-4-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Cys)-Thr (Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-(T)aeg-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Ser(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Phe(4-O-Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-A5c-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cys)-Abu-Tyr-NH2; D-Cpa-ciclo(D-Cys-(T)aeg-D-Trp-Lys-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-p-Me-Phe-NH2; Ac-(T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Nal-NH2; D-Cpa-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Nal-NH2; (A)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (C)aeg-ciclo(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (C)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; D-Cpa-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(Pen-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Trp-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Orn-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-hLys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2, (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-lamp-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Cha(4-am)-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)-Ser(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-c (D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr (Bzl)-D-Tyr-NH2; (T)aeg-c (D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-

Trp-NH2; (T)aeg-c(D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-D-Pen)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (C)aeg-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Ina-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Mnf-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Inp-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; Nua-c(D-Cys-Phe-D-Trp-Lys-D-Cys)-Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-Pal-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; (T)aeg-Pal-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)Tyr(Bzl)-Thr-NH2; (C)aeg-Phe-c(D-Cys-D-Trp-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Tyr-NH2; ou (T)aeg-D-Trp-c(D-Cys-Pal-Lys-D-Cys)Thr(Bzl)-Leu-NH2; ciclo(Trp-D-Trp-Lys-Phe(4-O-Bzl)-Phe-(T)aeg); ciclo(Trp-D-Trp-Lys-Pal-Phe-(T)aeg); ciclo(Phe-Phe-D-Trp-Lys-Thr-(T)aeg); ou H-ß-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2 (também conhecida como lanreotida)

ciclo(Pro-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Phe), ciclo(N-Me-Ala-Tyr-D-Trp-Lys-Val- Phe); D-beta-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH_2; D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cysbeta-Nal-NH_2; D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-α-Aminobutírico ácido-Cys-Thr-NH_2; pentaflúor-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH_2; N-Ac-D-beta-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH_2;D-beta-Nal~Cys-pentaflúor-Phe-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH_2 ; D-/3-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH_2; D-Phe-Cys-/3-Nal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH_2; D-beta-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-α-aminobutírico ácido-Cys-Thr-NH_2; D-p-Cl-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-α-aminobutírico ácido-Cys-Thr-NH_2; acetil-D-p-Cl-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-α-aminobutírico ácido-Cys-Thr-NH_2; ciclo(Pro-Phe-D-Trp- Lys-Thr-Phe); ciclo(N-Me-Ala-Tyr-D-Trp- Lys-Val-Phe); D-beta-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH_2; D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Trp-NH_2; D-Phe-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr(ol); D-p-Cl-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH_2; D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)-(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)-(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)-(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-

Cys-beta-Nal-NH2; (H)-(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-0-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Lys-Thr-NH2; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-

piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta- Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; H2-Phe-D-Pen-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Pen-beta-Nal-NH2; H2-Phe-D-Pen-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Pen-Thr-NH2; H2-Dip-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Dip-NH2; H2-F5-Phe-D-Cys-His-D-Trp-Lys-Val-Cys-F5-Phe-NH2; H2-Dip-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-m-F-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-m-F-Phe-NH2 H2-o-F-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-o-F-Phe-NH2; H2-p-F-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-p-F-Phe-NH2; H2-F5-Phe-D-Cys-Pal-D-

Trp-Lys-Val-Cys-F5-Phe-NH2; H2-F5-Phe-D-Cys-2-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-F5-Phe-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-His-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-Dip-NH2; H2-Dip-D-Cys-His-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Dip-D-Cys-His-D-Trp-Lys-Val-Cys-Dip-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-His-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Trp-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-p-F-Phe-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Tle-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-F-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Nle-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Ile-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Gly-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Ala-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Leu-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Bip-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Ile-Cys-Bip-NH2; H2-p-F-Phe-D-Cys-His-D-Trp Lys-Val-Cys-p-F-Phe-NH2; H2-Npa-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Tyr-NH2; H2-m-F-Phe-D-Cys-His-D-Trp-Lys-Val-Cys-m-F-Phe-NH2; H2-o-F-Phe-D-Cys-His-D-Trp-Lys-Val-Cys-o-F-Phe-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Dip-NH2; H2-Cpa-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Cpa-NH2; H2-Igl-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Igl-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-Dip-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-3-I-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-CN-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-p-CN-Phe-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-Dip-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Bta-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-F-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Tle-Cys-beta-Nal-NH2; H2-Bpa-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Bpa-NH2; H2-Iph-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Iph-NH2; H2-Trp-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Tle-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-Cl-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-Cl-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Tle-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-Cl-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Tle-Cys-p-Cl-Phe-NH2; H2-p-Cl-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Cha-Cys-p-Cl-Phe-NH2; H2-p-Cl-Phe-D-Cys-Tr(I)-D-Trp-Lys-Val-Cys-p-Cl-Phe-NH2; H2-p-Cl-Phe-D-Cys-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-Cl-Phe-D-Cys-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Tle-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-F-Phe-D-Cys-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-F-Phe-D-Cys-Tyr(I)-D-Trp-Lys-Tle-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2;

(H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-N02-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; H2-p-N02-Phe-D-Cys-Tyr(Bzl)-D-Trp-Lys-Thr(Bzl)-Cys-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-p-NO2-Phe-D-Cys-Tyr(Bzl)-D-Trp-Lys-Thr(Bzl)-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-p-NO2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Tyr-NH2; H2-p-NO2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-p-NO2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-P-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr(Bzl)-D-Trp-Lys-Thr(Bzl)-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr(Bzl)-D-Trp-Lys-Thr(Bzl)-Cys-Tyr(Bzl)-NH2; H2-D-Phe-D-Pen-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H2-D-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; H2-D-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-D-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; H2-D-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; H2-D-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; H2-D-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; H2-D-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-beta-Nal-NH2; H2-D-p-F-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-p-F-Phe-NH2; H2-D-Bip-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-D-Dip-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; H2-D-p-F-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Tle-Cys-beta-Nal-NH2; H2-D-p-Cl-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Tle-Cys-p-Cl-Phe-NH2; p-N02-D-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr(Bzl)-Cys-Tyr(Bzl)-NH2; p-N02-D-Phe-D-Cys-Tyr(Bzl)-D-Trp-Lys-Val-Cys-Tyr(Bzl)-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-p-NO2-P-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr(Bzl)-Cys-Tyr(Bzl)-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-p-NO2-P-Phe-D-Cys-Tyr(Bzl)-D-Trp-Lys-Val-Cys-Tyr(Bzl)-NH2; (H) (5-fenilpropionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-fenilpropionil)-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-fenilpropionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-fenilpropionil)-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-fenilpropionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(3-fenilpropionil)-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(3-fenilpropionil)-D-

Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(3-fenilpropionil)-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(3-[2-naftil]propionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-[2-naftil]propionil)-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-[2-naftil]propionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-[2-naftil]propionil)-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-[2-naftil]propionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(3-[2-naftil]propionil)-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-Thr-NH2; (H)(3-[2-naftil]propionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(3-[2-naftil]propionil)-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Thr-NH2; (H)(3-[p-hydroxyfenil])-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-naftil]propionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; (H)(3-naftil]propionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; (H)(3-fenilylpropionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-beta-Nal-NH2; ou (H)(3-fenilylpropionil)-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2- hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D- Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3- hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta- Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-

Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3- hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta- Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2- hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil) Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H(CH3CO)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil) Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R, 3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-beta-Nal-D-ys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-P-Trp-Lys-Vai-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil) -1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-

Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-D- Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(CH,CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(CH,CO)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil) -1-piperazinilacetil)Phe-P-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(CH3CO)Phe-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1l-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Val-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(CH3CO)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-P-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(CH3CO)Phe-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-

2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)Phe-P-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)Phe-D-Cys-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-2R-(2-naftil)etilamida; H2-beta-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; ou H2-Phe-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Abu-Cys-2R,3R-(2-hidroximetil)-3-hidróxi)propilamida; H2-Phe-D-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; H2-Phe-D-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H2-Phe-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil) -beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cpa-Pal-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cpa-Pal-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cpa-Pal-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cpa-Pal-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cpa-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cpa-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cpa-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil) -beta-Nal-D-Cpa-Pal-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; H2-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-beta-Nal-NH2; (H)(CH3CO)-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperazinilacetil)-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-beta-Nal-NH2; (H)(4-(2-hidroxietil)-1-piperizinaetanossulfonil)-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-beta-Nal-NH2; H2-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-beta-Nal-NH2-; ou H2-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H2-D-beta-Nal-D-Cpa-Phe-D-

Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H2-D-beta-Nal-D-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Phe-Thr-NH2; H2-D-Phe-D-Phe-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; H2-D-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-Thr-NH2; ou H2-D-beta-Nal-D-Cpa-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Phe-beta-Nal-NH2.

Análogos peptídicos de GHRH datam dos anos noventa, e incluem o 'antogonista-padrão' [Ac-Tyr', D-Arg2jhGH-RH (1-29) Nha. A Patente dos Estados Unidos No. US 4.659.693 (a este incorporada em sua totalidade por meio de referência à mesma) revela análogos antagonistas de GH-RH os quais contêm alguns resíduos de N, N'- dialquil-ômega-guanidino alpha-amino acila na posição 2 da sequência GH-RH (1-29). As publicações que seguem são dignas de nota, todas as quais são por este incorporadas por meio de referência às mesmas. A Publicação de Patente Internacional No. WO 91/16923 descreve modificações de hGH-RH incluindo: substituição de Tyr1, Ala2, Asp3 ou Asn8 com seus D-isômeros; substituição de Asn8 com L- ou D-Ser, D-Arg, Asn, Thr, Gln ou D-Lys; substituição de Ser9 com Ala para reforçar a anfifilicidade da região; e substituição de Goy'S com Ala ou Aib. A Patente dos Estados Unidos No. US 5.084.555 descreve um análogo [Se-psi [CH2-NH]-TyrI°lhGH-RH (1- 29) que inclui uma ligação pseudopeptídica (isto é, uma ligação peptídica reduzida a uma ligação [CH2-NH]) entre os resíduos R9 e R10. A Patente dos Estados Unidos No. US 5.550.212, a Patente dos Estados Unidos No. US 5.942.489, e a Patente dos Estados Unidos No. US 6.057.422 revelam análogos de hGH-RH (1-29) NH2 produzidos por substituição de vários aminoácidos e acilação com ácidos aromáticos ou não potares no N-término de GH-RH (1-29) NH2. As propriedades inibitórias tumorais de antagonistas caracterizadas na Patente dos Estados Unidos No. US 5.942.489 e na Patente dos Estados Unidos No. US 6.057.422 foram demonstradas usando camundongos nude carregando xenoenxertos de modelos experimentais de cânceres humanos. Exemplos específicos incluem: [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Amp9, Tyr (Me010, A-bu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl)6, Amp9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, His9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]

hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Amp9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1- 29) NH2; [HOOC (CH2) 8CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Amp9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC (CH2) 2CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCi) 6, Amp9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl)6, Amp9, Tyr (Me)10, His11, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1- 29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Cit8, Amp9, Tyr (Me)10, His", Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1- 29) NH2; [1-nac-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Cit8, Amp9, Tyr (Me)10, His11, A-bu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH- RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Cit8, Amp9, Tyr (Me)10, His", Abu15, Nle27, D-Arg28 Har'] hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC (CH2) 12CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Cit8, Amp9, Tyr (Me)10, His", Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29)NH2; [CH3 (CH2) 6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Cit8, Amp9, Tyr (Et)'°, His", Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Cit8, His9, Tyr (Et010, His11, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [CH3 (CH2) 6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Alpe, His9, Tyr (Et)10, His11, Abu15, Nle27, D-Arg28, i Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC (CH2) 8CO -Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Ala8, His9, T-yr(Et)10, His11, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [HO-OC(CH2)12CO -Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Ala8, His9, Tyr(Et)10, His11, A-bu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl)6, Ala8, His9, Tyr (Et)10, His11, Abu15, His20, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (p-Cl)6, Ala8, Amp9, Tyr (Et)10, His11, Abu15, His20, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [HOOC (CH2)1 2CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Tyr (Et)10, His11, Abu15, His20, Nle27, D-Arg28, Har2lhGH-RH' (1-29) NH2; [HOOC(CH2)12CO-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Ala8, Amp9, T-yr(Et)10, His11, Abu15, His20, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [1-Nac-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Tyr (Et)10, His11, Abu15, N-le27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, His9, Tyr (Et)'°, His", Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH- RH (1-

29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl)6, Ala8, His9, Cit15, N-le27, D-Arg28, har29]hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Ala8, His9, tyr(Et)10, His11, His15, His20, Nle27, D-Arg28 Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, A-la8, His9, Tyr (Et)10, His11, Orn12, Abu15, Orn21, Nle27, D- Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Alas, His9, Tyr (Et)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] h-GH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Ala8, His9, Tyr (Et)", His", Abu", Nie 2', D-Arg2, Har29]hGH-RH (1-29) NHEt; [CH3 (CH2) 8CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Tyr (Et)10, His11, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [CH3 (CH2) 10CO -Tyr1, D-Arg2 Phe (pCl) 6 Ala8, His9, Tyr(Et)10, His11, Abu15, Nle27, D-Arg28 Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [Hca -Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Ala8, His9, T-yr(Et)10, His11, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1- 29) NHEt; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Tyr (Et)10, His11, Abu15, nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29)NHMe; [HOOC (CH2) 12CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Alas, His9, Tyr (Et)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27 D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe Cl)6, Ala8, Amp9, Tyr(Et)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21 Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3(CH2)6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Dip10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D- Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Phe (pNO2)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [CH3(CH2)6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Ala8, His9, Tyr(Et)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [HOOC 9CH2)12CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Alas, Amp9, Tyr (Et)10, His", Orn, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC (CH2) 2CO -Tyr1, D-Arg2 Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Dip'°, His", Orn12, Abu'5, His, Orn21, Nie D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC(CH2)12CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Phe (pNO2)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC (CH2) 12CO-Tyr', D-Arg2, Phe

(pCl) 6, Alas, His9, Tyr (Et)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [CH3(CH2)6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, Amp9, Dip10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, d-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [CH3(CH2)6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Ala8, Amp9, Phe(pNO2)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, har29]hGH-RH(1-29)NH2; [CH3 (CH2) 6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Ala8, Amp9, Tyr(Et)10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, N-le27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29) NHEt; [CH3 (CH2) 6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, His9, Dip10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D- Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NHEt; [CH3 (CH2) 6CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Aia8, His9, Phe (pN02)'°, His", Orn'2, Abu'5, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [HOOC (CH2) 12CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl)6, Ala8, Amp9, Dip10, His", Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nie27 D-Arg Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC(CH2)12CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, Amp9, Phe (pN02) 10, His11, Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (p-Cl) 6, Ala', Amp9 Dip'°, His", Orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NHEt; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, A-la8, Amp9, Phe (pNO2)10, His11, orn12, Abu15, His20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [HOOC (CH2) 12CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Ala8, Amp9, Dip10, His11, Orn12, Abu15, his20, Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [HOOC (CH2)1 2CO -Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Alas, Amp9, Phe (pNO2)10, His", Orn12, Abu15, His20 Orn21, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [CH3 (CH2) 4CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [HOOC (CH2) 4CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 6CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [HO-OC(CH2)6CO-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [CH3(CH2)8CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC(CH2)8CO-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2;

[CH3 (CH2)1 0CO-Tyr1, D-Arg2 Phe Cl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg26, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [HOOC (CH2) 0CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [CH3 (CH2) 12CO-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC (CH2) i2CO-Tyr\ D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 4CO-Tyr1 D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC (CH2) 4CO-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) CO-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, Har28, D-Arg29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Abu'5, Nle27, Har28, D-Arg29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 4CO-Phe0, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, har29] hGH-RH (1-29) NH2; [CH3 (CH2) 14CO-D-Phe0, D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Arg°, D-Arg2, Phe (pCi) 6, Arg9, Abu'5, NLe27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-D-Arg°, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyrl, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Cite, Arg9 Abut5 Ni-e27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Cite, Cit9, Abu15, Nle27, D-Arg28, har29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Cit8, Arg9, Abu'5, Nle27, Har28, D-Arg29]hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Cit8, Cit9, Abu15, Nle27, Har28, D-Arg29]hGH-RH (1-29) NH2; [HOOC (CH2) i2CO-Tyr\ D-Arg2, Phe (pCl)6, Cit8, Cit9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1- 29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, D-Ala8, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) r3, Abu3, Arg9, Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl)6, Cit9, Abu15, Nle27, Har28, D-Arg29]hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Amp'°, Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Amp10 Abu5, Nle27, D-Arg28, Har29 hGH-RH (1-29) NH2; PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6 Arg9, His'o, Abu'5, Nle 27, D-Arg28, Ha) hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Cha10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc-Tyr',

D-Arg2, Phe (pCl)6, Har9, Tpi10, Abu15, Nle27, D-Arg28, har29]hGH-RH (1-29) NH2; PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Har9, 2-Nal10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Dip10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Har9, Phe (pNH2)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2 Phe (pCl) zu Har9, Trpt°, Abu15 Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Har9, Phe(pNO2)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Har9, 3-Pal10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyrl, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Et)'°, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-His', D-Arg2, Tyr6, Har9, Bpa10, Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Har12, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [Hca-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH (1-29) NHEt; [PhAc-Tyr'D-Arg2, Phe (pCl) 6 Har9, Tyr(Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [Hca-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29[hGH-RH(1-29) NHEt; PhAc-Tyr1, D-Arg2 Phe Cl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29 NHEt; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Aib15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NHEt; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Orn12, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1- 29) NHEt; [Hca-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Agm29]hGH-RH (1-29); [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)'°, Abu15, Nle27, D-Arg28, Agm29]hGH-RH(1-29); [Hca-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29, Har30]hGH-RH(1- 30) NH2; [Dat-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29, Har30]hGH-RH (1-30) NH2; [Ipa-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29, Har30]hGH-RH(1-30)NH2; [Hca-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29, Har30] hGH-RH (1-30) NHEt; [Hca-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me10), Abu15, Nle27, D-Arg28, D-Arg29, Har30]hGH-RH(1- 30) NH2; [Hca-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6,

Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29, D-Arg30]hGH-RH(1- 30) NH2; [Hca-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29, Agm30] hGH-RH (1-30); [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29, Agm30] hGH-RH (1-30); [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, His11, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Har9, T-yr(Me)10, Har11, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29) NH2 [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe(pCl)6, Har9, Tyr (Me)10, Amp11, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Har9, Tyr (Me)10, Cit", Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl)6, Har9, Tyr (Me)'°, Abu15, His20, Nle, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29) NH2; [PhAc-Tyr', D-Arg2, Phe(pCl)6, Har9, Tyr (Me)10, His", Abu15, His20, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH- RH (1-29) NH2; [PhAc-Tyr1, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Cit15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [PhAc°, D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [IndAc0, D-Arg2, Phe(pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1- 29) NH2; [PhAc°, D-Arg2, Phe pCl) r, Har9, T-yr(Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH- RH (1-29) NH2; [PhAc°, D-Arg2, Phe(pCl)6, Arg9, Tyr(Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH- RH (1-29) NH2; [PhAc°, His', D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1- 29) NH2; [Nac°, His', D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc°, D-Arg2, Phe (pCl) 6 Arg9, Abu'5, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [IndAc°, D-Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc°, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Har9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [PhAc°, D-Arg2, Phe (pCl) 6, Arg9, Tyr (Me)10, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2 ; [PhAc°, His', D- Arg2, Phe (pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29]hGH-RH(1-29)NH2; [Nac°, His', D-Arg2, Phe(pCl)6, Arg9, Abu15, Nle27, D-Arg28, Har29] hGH-RH (1-29) NH2; [$PhAc^0$, D-Arg^2, $Phe(pCl)^{fi}$, Ala^{15}, Nle^{27}, Asp^{28}]hGH-RH(1-28)Agm; [Ibu°,D-Arg^2, $Phe(pCl)^{8\ 10}$, Abu^{15}, Nle^{27}]hGH-RH(1-28)Agm; [PhAc°,D-Arg^2, $Phe(pCl)^6$, Abu^{15}, N'le ^{7}]hGH-RH(1-28)Agm; [PhAc°,D-Arg^2, $Phe(pCl)^6$, Ala^{15},

Nle^{27}]hGH-RH(1-29)-NH_2; [PhAc°, D-Arg^2,$Phe(pCl)^6$,Abu^8,Ala^{15},Nle^{27}]hGH-RH(1-29)NH_2; [$PhAc^0$, D-Arg^2, $Phe(pCl)^6$, $Abu^{8,28}$, Ala^{15}, Nle^{27}]hGH-RH(1-29)-NH_2; ciclo^{8,12}[PhAc°,D-Arg^2,$Phe(pCl)^6$,Glu^8,Ala^{15},Nle^{27}]hGH-RH(1-29)-NH_2; ciclo$^{17,\ 21}$ [PhAc°,D-Arg^2,$Phe(pCl)^6$,Ser^8,Ala^{15},Glu^{17},Nle^{27}]hGH-RH(1-29)-NH_2; ciclo$^{8,12;21,25}$[PhAc°,D-Arg^2,$Phe(pCl)^6$,$Glu^{8,25}$,Abu^{15},Nle^{27}]hGH-RH(1-28)Agm; ciclo$^{8,12;21,25}$[PhAc°,D-Arg^2,D-Asp^3,$Phe(pCl)^8$,$Glu^{8,25}$,D-Lys^{12},Ala^{16},Nle^{27}]hGH-RH(1-29)-NH_2; ciclo$^{8,12;21,25}$[[PhAc°,D-Arg^2, $Phe(pCl)^6$, $Glu^{8,25}$, D-Lys^{12}, Ala^{15}, Nle^{27}] hGH-RH(1-29)-NH_2. Exemplos adicionais de análogos de GHRH são proporcionados na Publicação de Patente Internacional No. WO 96/032126, na Publicação de Patente Internacional No. WO 96/022782, na Publicação de Patente Internacional No. WO 96/016707, na Publicação de Patente Internacional No. WO 94/011397, na Publicação de Patente Internacional No. WO 94/011396, cada uma das quais é incorporada aqui, a este requerimento de patente, por meio de referência às mesmas.

Exemplos de análogos de bombesina adequados para aplicação na presente invenção incluem porções de direcionamento compreendendo: D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2 (nome de código BIM-26218), D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Leu-NH_2 (nome de código BIM-26187); D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-φ [CH_2NH]-Phe-NH_2 (nome de código BIM-26159), e D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-φ [CH_2NH]-Cpa-NH_2 (nome de código BIM-26189); éster D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-N-metil-D-Ala-His-Leu- metílico, e éster D-F_g-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Leu- metílico.

Análogos de bombesina incluem peptídeos derivados dos peptídeos estruturalmente relacionados, que ocorrem naturalmente, a saber, bombesina, neuromedina B, neuromedina C, litorina, e GRP. As sequências de aminoácidos relevantes destes peptídeos que ocorrem naturalmente são: Bombesina (últimos 10 aminoácidos): Gly-Asn-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2; Neuromedina B: Gly-Asn-Leu-Trp-Ala-Thr-Gly-His-Phe-Met-NH_2; Neuromedina C: Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2; Litorin: p-Glu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Phe-Met-NH_2; GRP Humano (últimos 10 aminoácidos): Gly-Asn-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2.

Análogos adequados para aplicação na presente invenção inclu-

em os descritos na Publicação de Patente dos Estados Unidos de Número Serial 502,438, arquivada em 30 de março de 1990, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 397.169, arquivada em 21 de agosto de 1989, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 376.555, arquivada em 7 de julho de 1989, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de Número Serial 394.727, arquivada em 16 de agosto de 1989, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 317.941, arquivada em 2 de março de 1989, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de Número Serial 282.328, arquivada em 9 de dezembro de 1988, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 257.998, arquivada em 14 de outubro de 1988, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 248.771, arquivada em 23 de setembro de 1988, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 207.759, arquivada em 16 de junho de 1988, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 204.171, arquivada em 8 de junho de 1988, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 173.311, arquivada em 25 de março de 1988, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 100.571, arquivada em 24 de setembro de 1987; e na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 520.225, arquivada em 9 de maio de 1990, na Publicação de Patente dos Estados Unidos de No. Serial 440.039, arquivada em 21 de novembro de 1989. Todos estes requerimentos são por este incorporados por meio de referência. Análogos de bombesina também são descritos em Zachary *et al.*, Proc. Nat. Aca. Sci. 82: 7616 (1985); Heimbrook *et al.*, "Synthetic Peptides: Approaches to Biological Problems", UCLA Symposium on Mol. and Cell. Biol. New Series, Vol. 86, ed. Tarn and Kaiser; Heinz-Erian *et al.* , Am. J. Physiol. G439 (1986); Martinez *et al.*, J. Med. Chem. 28: 1874 (1985); Gargosky *et al.*, Biochem. J. 247: 427 (1987); Dubreuil *et al.* , Drug Design and Delivery, Vol 2:49, Harwood Academic Publishers, GB (1987); Heikkila *et al.*, J. Biol. Chem. 262: 16456 (1987); Caranikas *et al.* , J. Med. Chem. 25:1313 (1982); Saeed *et al.*, Peptides 10: 597 (1989); Rosell *et al.*, Trends in Pharmacological Sciences 3: 211 (1982); Lundberg *et al.*, Proc. Nat. Aca. Sci. 80: 1120, (1983); Engberg *et al.*, Nature 293: 222 (1984); Mi-

zrahi *et al.*, Euro. J. Pharma. 82: 101 (1982); Leander *et al.*, Nature 294: 467 (1981); Woll *et al.*, Biochem. Biophys. Res. Comm. 155: 359 (1988); Rivier *et al.*, Biochem. 17: 1766 (1978); Cuttitta *et al.*, Cancer Surveys 4: 707 (1985); Aumelas *et al.*, Int. J. Peptide Res. 30: 596 (1987); todas as quais também são por este incorporadas por meio de referência.

Os análogos podem ser preparados por meio de técnicas convencionais, tais como as descritas na Publicação de Patente Internacional No. WO 92/20363 e na Patente Européia No. EP0737691.

Análogos de bombesina adicionais adequados para aplicação na presente invenção compreendem: D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-jjsi-Tac-NH2; D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-£si-Tac-NH_2; D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-£si-DMTac-NH_2; Hca-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-jβsi-Tac-NH_2; D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Leu-NH_2; D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Phe-NH_2; D-Trp-Glu(MeNH)-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Phe-NH_2; D-Trp-Gin-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Trp-NH_2; D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly- His-Leu-psi-Leu-NH_2; D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly- His-Leu-psi-Phe-NH_2; D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly- His-Leu-psi-Trp-NH_2; D-pGlu-Gln-Trp-Ala-Val- Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH_2.; D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH_2; D-Trp-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH_2; Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH2; NH_2CO-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH_2 e ACY-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH_2 em que ACY é acetila, octanoila ou 3-hidroxi-2-naftoíla; D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly His-Leu-psi-Tpi-NH_2; D-Trp-Glu(MeO)-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH_2; D-Trp-Glu(MeNH)-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH_2; D-Trp-His(Bz)-Trp-Ala-Val Gly-His-Leu-psi-Tpi-NH_2; Phe-Glu-Trp-Ala-Val-Gly His-Leu-psi-Tpi-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Nal-Cys-Thr-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Nal-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-Nal-NH_2; H_2-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-D-Nal-NH_2; H_2-D-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-D-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Trp-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Val-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Phe-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Nal-Lys-Val-Cys-

Nal-NH_2; H_2-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Nal-Cys-Thr-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Val-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys(iPr)-Thr-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys(diEt)-Thr-Cys-Nal-NH_2 H_2-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Ser-Cys-Thr-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Nal-D-Cys-Tyr-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Nal-NH_2; ou H_2-D-Nal-Cys-Phe-D-Trp-Lys-Thr-Cys-Nal-NH_2; H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Dab-Val-Cys-Nal-NH_2, H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Val-Cys-Nal-NH_2, H_2-D-Nal-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Val-Cys-Nal-NH_2; pGlu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Leu-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Leu-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2, D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met-NH_2, D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Leu-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Leu-Leu-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Leu-Met-NH_2, D-Cpa-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Leu-Met-NH_2, pGlu-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Phe-Leu-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Phe-Leu-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Phe-Met-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Phe-Leu-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Nle-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Leu-Nle-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Phe-Nle-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Phe-Nle-NH_2, D-p-Cl-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leuc[CH_2NH]Phe-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-proplyamide, Ac-His-Trp-Ala-Val-D-Ala-His-Leu-Leu-NH_2, D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-CHx-Ala-Leu-NH_2, ciclo-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Leu, D-Cys-Asn-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Cys-NH_2, ciclo-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met, Cys-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Cys-NH_2, ciclo-D-Phe-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met, ciclo-D-Phe-His-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met, ciclo-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-Met.

Análogos de bombesina adicionais são descritos, por exemplo, na Publicação de Patente Internacional No. WO 89/02897, na Publicação de Patente Internacional No. WO 91/17181, na Publicação de Patente Internacional No. WO 90/03980 e na Publicação de Patente Internacional No. WO 91/02746, todas as quais são incorporadas aqui, a este requerimento de patente, por meio de referência às mesmas.

Exemplos de análogos de grelina adequados para aplicação

como uma porção de direcionamento da presente invenção compreendem: Tyr-DTrp-DLys-Trp-DPhe-NH_2, Tyr-DTrp-Lys-Trp-DPhe-NH_2, His-DTrp-DLys-Trp-DPhe-NH_2, His-DTrp-DLys-Phe-DTrp-NH_2, His-DTrp-DArg-Trp-DPhe-NH_2, His-DTrp-DLys-Trp-DPhe-Lys-NH_2, DesaminoTyr-DTrp-Ala-Trp-DPhe-NH_2, DesaminoTyr-DTrp-DLys-Trp-DPhe-NH_2, DeaminoTyr-DTrp-Ser-Trp-DPhe-Lys-NH_2, DesaminoTyr-DTrp-Ser-Trp-DPhe-NH_2, His-DTrp-DTrp-Phe-Met-NH_2, Tyr-DTrp-DTrp-Phe-Phe-NH_2, Glyψ[CH_2NH]-DβNal-Ala-Trp-DPhe-Lys-NH_2, Glyψ[CH2NH]-DbetaNal-DLyS-TrP-DPhe-Lys-NH_2, DAla-DbetaNal-DLys-DTrp-Phe-Lys-NH_2, His-DbetaNal-DLys-Trp-DPhe-Lys-NH_2, Ala-His-DTrp-DLys-Trp-DPhe-Lys-NH_2, Alaφ[CH_2NH]-DbetaNal-Ala-Trp-DPhe-Lys-NH_2, DbetaNal-Ala-Trp-DPhe-Ala-NH_2, DAla-Dciclo-hexilAla-Ala-Phe-DPhe-Nle-NH_2, Dciclo-hexilAla-Ala-Phe-DTrp-Lys-NH_2, DAla-DbetaAla-Thr-DThr-Lys-NH_2, Dciclo-hexilAla-Ala-Trp-DPhe-NH2, DAla-DbetaNal-Ala-Ala-DAla-Lys-NH_2, DbetaNal-Ala-Trp-DPhe-Leu-NH_2, His-DTrp-Phe-Trp-DPhe-Lys-NH_2, DAla-DbetaNal-DAla-DTrp-Phe-Lys-NH_2, pAla-Trp-DAla-DTrp-Phe-NH_2, His-Trp-DAla-DTrp-Phe-LysNH_2, DLys-DβNal-Ala-Trp-DPhe-Lys-NH_2, DAla-DbetaNal-DLys-DTrp-Phe-Lys-NH_2, Tyr-DAla-Phe-Aib-NH_2, Tyr-DAla-Sar-NMePhe-NH_2, αγAbu-DTrp-DTrp-Ser-NH_2, αγAbu-DTrp-DTrp-Lys-NH_2, αγAbu-DTrp-DTrp-Orn-NH_2, αAbu-DTrp-DTrp-Orn-NH_2, DThr-DάNal-DTrp-DPro-Arg-NH_2, DAla-Ala-DAla-DTrp-Phe-Lys-NH_2, Alaψ[CH_2NH]His-DTrp-Ala-Trp-DPhe-Lys-NH_2, Lys-DHis-DTrp-Phe-NH_2, γAbu-DTrp-DTrp-Orn-NH_2, inip-Trp-Trp-Phe-NH_2, Ac-DTrp-Phe-DTrp-Leu-NH_2, Ac-DTrp-Phe-DTrp-Lys-NH_2, Ac-DTrp-DTrp-Lys-NH_2, DLys-Tyr-DTrp-DTrp-Phe-Lys-NH_2, Ac-DbetaNal-Leu-Pro-NH_2, pAla-Trp-DTrp-DTrp-Orn-NH_2, DVal-DαNal-DTrp-Phe-Arg-NH_2, DLeu-DαNal-DTrp-Phe-Arg-NH_2, CiclohexilAla-DαNal-DTrp- Phe-Arg-NH_2, DTp-DαNal-DTrp-Phe-Arg-NH_2, DAla-DβNal-DPro-Phe-Arg-NH_2, Ac-DαNal-DTrp-Phe-Arg-NH_2, DαNal-DTrp-Phe-Arg-NH_2, His-DTrp-DTrp-Lys-NH_2, Ac-DpNal-DTrp-NH_2, αAib-DTrp-DciclohexilAla-NH_2, αAib-DTrp-DAla-ciclo-hexilAla-NH_2, DAla-Dciclo-hexilAla-Ala-Ala-Phe-DPhe-Nle-NH_2, DPhe-Ala-Phe-DPal-NH_2, DPhe-Ala-Phe-DPhe-Lys-NH_2, DLys-Tyr-DTrp-DTrp-Phe-NH_2, Ac-DLys-Tyr-DTrp-DTrp-Phe-NH_2, Arg-DTrp-Leu-Tyr-Trp-Pro(cíclico Arg-Pro), Ac-DβNal-PicLys-ILys-DPhe-NH2,

DPal-Phe-DTrp-Phe-Met-NH_2, DPhe-Trp-DPhe-Phe-Met-NH_2, DPal-Trp-DPhe-Phe-Met-NH_2, pAla-Pal-DTrp-DTrp-Orn-NH_2, αγAbu-Trp-DTrp-DTrp-Orn-NH_2, βAla-Trp-DTrp-DTrp-Lys-NH_2, γAbu-Trp-DTrp-DTrp-Orn-NH_2, Ava-Trp-DTrp-DTrp-Orn-NH_2, DLys-Tyr-DTrp-Ala-Trp-DPhe-NH_2, His-DTrp-DArg-Trp-DPhe-NH_2, <Glu-His-Trp-DSer-DArg-NH_2, DPhe-DPhe-DTrp-Met-DLys-NH_2, 0-(2-metilalill) benzofenona oxima, (R)-2-amino-3-(lH-indol-3-il)-l-(4-fenilpiperidin-1-il)propan-1-ona, N-((R)-1-((R)-1-((S)-3-(lH-indol-3-il)-1-oxo-1-(4-fenilpiperidin-1-il)propan-2-ilamino)-6-amino-1-oxohexan-2-ilamino)-3-hidroxi-1-oxopropan-2-il)benzamida, (S)-N-((S)-3-(1H-indol-3-il)-1-oxo-1-(4-fenilpiperidin-1-il)propan-2-il)-6-acetamido-2-((S)-2-amino-3-(benziloxi)propanamido)hexanamida, (S)-N-((R)-3-(1H-indol-3-il)-1-oxo-1-(4-fenilpiperidin-1-il)propan-2-il)-2-((S)-2-acetamido-3-(benziloxi)propanamido)-6-amino-hexanamida, (R)-N-(3-(1H-indol-3-il)-1-(4-(2-metoxifenil)piperidin-1-il)-1-oxopropan-2-il)-4-aminobutanamida, (R)-N-(3-(1H-indol-3-il)-1-(4-(2-metoxifenil)piperidin-1-il)-1-oxopropan-2-il)-2-amino-2-metilpropanamida, 3-(p-tolilcarbamoil)-2-naftoato de metila, 3-(4-(2-metoxifenil)piperidina-1-carbonil)-2-naftoato de etila, 3-(2-metoxifenilcarbamoil)-2-naftoato, (S)-2,4-diamino-N-((R)-3- (naftalen-2-ilmetóxi)-1-oxo-1-(4-fenilpiperidin-1-il)propan-2-il)butanamida, naftaleno-2,3-di-ilbis((4-(2-metoxifenil)piperazin-1-il)metanona), (R)-2-amino-N-(3-(benziloxi)-1-oxo-1-(4-fenilpiperazin-1-il)propan-2-il)-2-metilpropanamida, ou (R)-2-amino-3-(benziloxi)-1-(4-fenilpiperazin-1-il)propan-1-ona.

Exemplos de análogos de GnRH adequados para aplicação como uma porção de direcionamento na presente invenção incluem os conhecidos, por exemplo, da Patente Européia No. EP171477, da Publicação de Patente Internacional No. WO 96/033729, da Publicação de Patente Internacional No. WO 92/022322, da Publicação de Patente Internacional No. WO 92/013883, e da Publicação de Patente Internacional No. WO 91/05563, cada uma das quais é incorporada aqui, a este requerimento de patente, por meio de referência a estas.

Exemplos específicos compreendem: (NAcD-Qal^1,$DPtf^2$,$DPAl^3$,$cjsPzACAla^5$,$DPicLys^6$,$DAla^{10}$)LHRH; NAcD-

Nal^1,DpClPhe^2,DPal^3,cjsPzACAla^5,DNicLys^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Nal^1,DpClPhe^2,DPal^3,Thr^4,PicLys^5,DPicLys^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Nal^1,DpClPhe^2,DPal^3,PicLys^5,DPicLys^6,Thr^7,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NapDT-hr^1,DpClPhe^2,DPal^3,PicLys^5,DPicLys^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Nal^1,DpClPhe^2,DPal^3,NicLys^5,DNicLys^6,Thr^7,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Nal^1,DpClPhe^2,DPal^3,Thr^{4}NicLys^5,DNicLys^6,Thr^7,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcDNal^1,DpClPhe^2,DPal^3,PicLys^5,D(PicSar)Lys^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH'; (NAcDNal^1,DpClPhe^2,DPal^3,D(PicSar)Lys^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Nal^1,DpClPhe^2,DPal^3,PicLys^5,D(6ANic)Lys^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Nal^1,DpClPhe^2,DPal^3,PicLys^5,D(6ANic)0rn^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Qal^1,DCpa^2,DPal^3,cisPzACAla^5,DPicLys^6,NLeu^7,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Nal^1,DCpa^2,DPal^3 DPicLys^5,DAPhe(PicSar)$^\beta$,ILys^8,DAla^{l0})LHRH; NAcD-Qal^1,DCpa^2,DPal^3,PicLys^5,DPal^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH; (NAcD-Nal^1,DCpa^2,DPal^3,PicLys^5,DOrn(ACyp)^6,ILys^8,DAla^{10})LHRH; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Lys(ciclo-pentil)-Phe-Arg-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-ø-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Lys(ciclopentil)-Phe-Lys(ciclopentil)-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Arg-Phe-(isopropil)D-Lys-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Lys(benzil)-Phe-Arg-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Lys(Cl-benzil)-Phe-Arg-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Lys(heptil)-Phe-Arg-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Arg-Phe-Lys-(t-butilmetil)-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Arg-Phe-Lys-(4-metil-benzil)-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Arg-Phe-Lys-(benzil)-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-p-Cl-Phe-D-Trp-Ser-Tyr-D-p-NH_2-Phe-Phe-(isopropil)Lys-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-beta-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Lys(heptil)-Phe-Lys-(heptil)-Pro-D-Ala-NH_2; N-acetil-D-3-Nal-D-Phe-D-Phe-Ser-Tyr-D-Lys(1-butilpentil)-Phe-Lys(1-butilpentil)-Arg-Pro-D-Ala-NH_2.

Exemplos de análogos de urotensina adequados para aplicação como uma porção de direcionamento da presente invenção compreendem: Cpa-c [D-Cys-Phe-Trp-Lys-Thr-Cys]-Val-NH2; e Asp-c[Cys-Phe-Trp-Lys-Tyr-

Cys]-Val-OH.

Os polipeptídeos da presente invenção carecem de um domínio H_C funcional de uma neurotoxina clostridial. Por conseguinte, os referidos polipeptídeos não são capazes de ligar membranas sinaptossomais de rato (através de um componente H_C clostridial) em ensaios de ligação conforme descrito em Shone *et al.* (1985) Eur. J. Biochem. 151, 75-82. Em uma modalidade preferencial, os polipeptídeos preferencialmente carecem dos últimos 50 aminoácidos de C-terminal de uma holotoxina de neurotoxina clostridial. Em outra modalidade, os polipeptídeos preferencialmente carecem dos últimos 100, preferencialmente dos últimos 150, mais preferencialmente dos últimos 200, de modo particularmente preferencial dos últimos 250, e o mais preferencialmente dos últimos 300 resíduos aminoácidos de C-terminal de uma holotoxina de neurotoxina clostridial. Alternativamente, a atividade de ligação de Hc pode ser negada / reduzida por mutagênese – a título de exemplo, recorrendo a BoNT/ A por conveniência, modificação de uma ou duas mutações de resíduos aminoácidos (W1266 a L e Y1267 a F) na bolsa de ligação de gangliosídeo faz com que a região H_C perca sua função de ligação de receptor. Mutações análogas podem ser feitas para componentes peptídicos clostridiais não sorotipo A, por exemplo, um constructo à base de botulinum B com mutações (W1262 a L e Y1263 a F) ou botulinum E (W1224 a L e Y1225 a F). Outras mutações para o sítio ativo realizam a mesma ablação de atividade de ligação de receptor de H_C, por exemplo, Y1267S em toxina botulínica tipo A e o resíduo correspondente altamente conservado nas outras neurotoxinas clostridiais. Detalhes desta e de outras mutações são descritos em Rummel et al (2004) (Molecular Microbiol. 51: 631-634), a qual é por este incorporada por meio de referência à mesma.

Em outra modalidade, os polipeptídeos da presente invenção carecem de um domínio funcional H_C de uma neurotoxina clostridial e também carecem de qualquer porção de direcionamento funcionalmente equivalente. Por conseguinte, os referidos polipeptídeos carecem da função de ligação natural de uma neurotoxina clostridial e não são capazes de ligar membranas sinaptossomais de rato (através de um componente clostridial H_C, ou

através de qualquer porção de direcionamento funcionalmente equivalente) em ensaios de ligação conforme descrito em Shone *et al.* (1985) Eur. J. Biochem. 151, 75-82.

O peptídeo H_C de uma neurotoxina clostridial nativa compreende cerca de 400-440 resíduos aminoácidos, e consiste em dois domínios funcionalmente distintos de cerca de 25 kDa cada, a saber a região de N-terminal (comumente referida como o peptídeo ou domínio H_{CN}) e a região de C-terminal (comumente referida como o peptídeo ou domínio H_{CC}). Este fato é confirmado pelas seguintes publicações, cada uma das quais é incorporada aqui, a este requerimento de patente, em sua totalidade por meio de referência às mesmas: Umland TC (1997) Nat. Struct. Biol. 4: 788-792; Herreros J (2000) Biochem. J. 347: 199-204; Halpern J (1993) J. Biol. Chem. 268: 15, pp. 11188-11192; Rummel A (2007) PNAS 104: 359-364; Lacey DB (1998) Nat. Struct. Biol. 5: 898-902; Knapp (1998) Am. Cryst. Assoc. Abstract Papers 25: 90; Swaminathan and Eswaramoorthy (2000) Nat. Struct. Biol. 7: 1751-1759; e Rummel A (2004) Mol. Microbiol. 51(3), 631-643. Além disso, foi bem documentado que a região de C-terminal (H_{CC}), a qual constitui os 160-200 resíduos aminoácidos de C-terminal, é responsável por ligação de uma neurotoxina clostridial a seus receptores celulares naturais, a saber a terminais nervosos na junção neuromuscular - este fato também é confirmado pelas publicações acima. Deste modo, referência do início ao fim desta especificação a uma cadeia pesada clostridial carecendo de um peptídeo (ou domínio) H_C de cadeia pesada funcional de tal modo que a cadeia pesada é incapaz de ligação a receptores da superfície celular aos quais uma neurotoxina clostridial nativa liga significa que a cadeia pesada clostridial simplesmente carece de um peptídeo funcional H_{CC}. Em outras palavras, a região do peptídeo H_{CC} é ou parcialmente ou totalmente eliminada, ou modificada de modo diverso (por exemplo, através de tratamento químico ou proteolítico convencional) para inativar sua capacidade de ligação nativa para terminais nervosos na junção neuromuscular.

Deste modo, em uma modalidade, um peptídeo H_N clostridial da presente invenção carece de parte de uma porção peptídeo C-terminal (H_{CC})

de uma neurotoxina clostridial e portanto carece da função de ligação de H_C de neurotoxina clostridial nativa. A título de exemplo, em uma modalidade, o peptídeo H_N clostridial extendido C-terminalmente carece dos 40 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 60 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 80 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 100 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 120 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 140 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 150 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 160 resíduos aminoácidos de C-terminal de uma cadeia pesada de neurotoxina clostridial. Em outra modalidade, o peptídeo H_N clostridial da presente invenção carece de toda a porção peptídeo C-terminal (H_{CC}) de uma neurotoxina clostridial e portanto carece da função de ligação de H_C de neurotoxina clostridial nativa. A título de exemplo, em uma modalidade, o peptídeo H_N clostridial carece dos 165 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 170 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 175 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 180 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 185 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 190 resíduos aminoácidos de C-terminal, ou dos 195 resíduos aminoácidos de C-terminal de uma cadeia pesada de neurotoxina clostridial. A título de exemplo adicional, o peptídeo H_N clostridial da presente invenção carece de uma sequência de referência H_{CC} clostridial selecionada entre o grupo consistindo em:

Neurotoxina Botulínica tipo A - resíduos aminoácidos (Y1111-L1296)
Neurotoxina Botulínica tipo B - resíduos aminoácidos (Y1098-E1291)
Neurotoxina Botulínica tipo C - resíduos aminoácidos (Y1112-E1291)
Neurotoxina Botulínica tipo D - resíduos aminoácidos (Y1099-E1276)
Neurotoxina Botulínica tipo E - resíduos aminoácidos (Y1086-K1252)
Neurotoxina Botulínica tipo F - resíduos aminoácidos (Y1106-E1274)
Neurotoxina Botulínica tipo G - resíduos aminoácidos (Y1106-E1297)
Neurotoxina Tetânica - resíduos aminoácidos (Y1128-D1315).

As sequências de referência identificadas acima devem ser consideradas um guia uma vez que ligeiras variações podem ocorrer de acordo com subsorotipos.

A protease da presente invenção engloba todas as proteases não citotóxicas que são capazes de clivar uma ou mais proteínas do aparelho de fusão exocítica em células eucarióticas.

A protease da presente invenção é preferencialmente uma protease bacteriana (ou fragmento da mesma). Mais preferencialmente a protease bacteriana é selecionada entre os gêneros *Clostridium* ou *Neisseria / Streptococcus* (por exemplo, uma protease de IgA de cadeia curta clostridial, ou uma protease de IgA neisserial preferencialmente de *N. gonorrhoeae* ou de *S. pneumoniae*).

A presente invenção também engloba proteases não citotóxicas variantes (isto é, variantes de moléculas de proteases que ocorrem naturalmente), na medida que as proteases variantes ainda demonstram a atividade de protease requerida. A título de exemplo, uma variante pode ter no mínimo 70%, preferencialmente no mínimo 80%, mais preferencialmente no mínimo 90%, e o mais preferencialmente no mínimo 95 ou no mínimo 98% de homologia de sequência de aminoácidos com uma sequência de protease de referência. Portanto, o termo variante inclui proteases não citóticas tendo atividade de endopeptidase reforçada (ou reduzida) – menção em particular aqui é feita aos K_{cat}/K_m aumentados de mutantes de BoNT/A Q161A, E54A, e K165L vide Ahmed, S.A. (2008) Protein J. DOI 10.1007/s10930-007-9118-8, a qual é incorporada por meio de referência à mesma. O termo fragmento, quando usado em relação a uma protease, tipicamente significa um peptídeo tendo no mínimo 150, preferencialmente no mínimo 200, mais preferencialmente no mínimo 250, e o mais preferencialmente no mínimo 300 resíduos aminoácidos da protease de referência. Como com o componente 'fragmento' da porção de direcionamento (discutido acima), 'fragmentos' de protease da presente invenção englobam fragmentos de proteases variantes à base de uma sequência de referência.

A protease da presente invenção preferencialmente demonstra uma atividade de serina ou de metaloprotease (por exemplo, atividade de endopeptidase). A protease é preferencialmente específica para uma proteína SNARE (por exemplo, SNAP-25, sinaptobrevina/VAMP, ou sintaxina).

É feita menção em particular aos domínios de protease de neurotoxinas, por exemplo, a domínios de protease de neurotoxinas bacterianas. Deste modo, a presente invenção engloba o uso de domínios de neurotoxina, os quais ocorrem na natureza, bem como versões preparadas de modo recombinante das referidas neurotoxinas que ocorrem naturalmente.

Neurotoxinas exemplares são produzidas por clostrídios, e o termo neurotoxina clostridial engloba neurotoxinas produzidas por *C. tetani* (TeNT), e por *C. botulinum* (BoNT) sorotipos A-G, bem como as neurotoxinas semelhantes a BoNT intimamente relacionadas produzidas por *C. baratii* e *C. butyricum*. As abreviações mencionadas acima são usadas do início ao fim da presente especificação. Por exemplo, a nomenclatura BoNT/A denota a fonte de neurotoxina como BoNT (sorotipo A). Nomenclatura correspondente se aplica a outros sorotipos de BoNT.

BoNTs são as toxinas mais potentes conhecidas, com valores de dose letal mediana (LD50) para camundongos variando a partir de 0,5 até 5 ng/kg dependendo do sorotipo. BoNTs são adsorvidas no trato gastrointestinal, e, depois de penetrar na circulação geral, ligam à membrana pré-sináptica de terminais nervosos colinérgicos e previnem a liberação de seu neurotransmissor acetilcolina. BoNT/B, BoNT/D, BoNT/F e BoNT/G clivam sinaptobrevina/ proteína de membrana associada a vesícula (VAMP); BoNT/C, BoNT/A e BoNT/E clivam a proteína associada- sinaptossomal de 25 kDa (SNAP-25); e BoNT/C cliva sintaxina.

BoNTs partilham uma estrutura comum, sendo proteínas bicadeia de ~150 kDa, consistindo em uma cadeia pesada (cadeia H) de ~100 kDa unida de modo covalente por uma única ligação dissulfeto a uma cadeia curta (cadeia L) de ~50 kDa. A cadeia H consiste em dois domínios, cada um de ~50 kDa. O domínio de C-terminal (H_C) é necessário para a ligação neuronal de alta afinidade, ao passo que o domínio de N-terminal (H_N) é proposto para ser envolvido em translocação de membrana. A cadeia L é uma metaloprotease zinco-dependente responsável pela clivagem da proteína SNARE do substrato.

O termo fragmento de cadeia L significa um componente da ca-

deia L de uma neurotoxina, cujo fragmento demonstra uma atividade de metaloprotease e é capaz de clivar proteoliticamente uma vesícula e/ou proteína associada a membrana plasmática envolvida em exocitose celular.

Exemplos de sequências (de referência) de proteases adequadas incluem:

Neurotoxina Botulínica tipo A	- resíduos aminoácidos (1-448)
Neurotoxina Botulínica tipo B	- resíduos aminoácidos (1-440)
Neurotoxina Botulínica tipo C	- resíduos aminoácidos (1-441)
Neurotoxina Botulínica tipo D	- resíduos aminoácidos (1-445)
Neurotoxina Botulínica tipo E	- resíduos aminoácidos (1-422)
Neurotoxina Botulínica tipo F	- resíduos aminoácidos (1-439)
Neurotoxina Botulínica tipo G	- resíduos aminoácidos (1-441)
Neurotoxina Tetânica	- resíduos aminoácidos (1-457)
IgA protease	- resíduos aminoácidos (1-959)*

* Pohlner, J. *et al.* (1987). Nature 325, pp. 458-462, a qual é por este incorporada por meio de referência à mesma.

A sequência de referência identificada acima deve ser considerada um guia uma vez que ligeiras variações podem ocorrer de acordo com subsorotipos. A título de exemplo, a Patente dos Estados Unidos No. 2007/0166332 (a este incorporada por meio de referência à mesma) cita sequências clostridiais ligeiramente diferentes:

Neurotoxina Botulínica tipo A	- resíduos aminoácidos (M1-K448)
Neurotoxina Botulínica tipo B	- resíduos aminoácidos (M1-K441)
Neurotoxina Botulínica tipo C	- resíduos aminoácidos (M1-K449)
Neurotoxina Botulínica tipo D	- resíduos aminoácidos (M1-R445)
Neurotoxina Botulínica tipo E	- resíduos aminoácidos (M1-R422)
Neurotoxina Botulínica tipo F	- resíduos aminoácidos (M1-K439)
Neurotoxina Botulínica tipo G	- resíduos aminoácidos (M1-K446)
Neurotoxina Tetânica	- resíduos aminoácidos (M1-A457)

Uma variedade de fragmentos de toxina clostridial compreendendo a cadeia curta pode ser útil em aspectos da presente invenção com a condição de que estes fragmentos de cadeia curta podem especificamente

direcionar os componentes do núcleo do aparelho de liberação do neurotransmissor e portanto participam da execução do mecanismo celular global por meio do qual uma toxina clostridial cliva proteoliticamente um substrato. As cadeias curtas de toxinas clostridiais têm cerca de 420 a 460 aminoácidos de extensão e compreendem um domínio enzimático. Pequisa mostrou que toda a extensão de uma cadeia curta da toxina clostridial não é necessária para a atividade enzimática do domínio enzimático. Como um exemplo não limitante, os oito primeiros aminoácidos da cadeia curta BoNT/A não são necessários para atividade enzimática. Como outro exemplo não limitante, os oito primeiros aminoácidos da cadeia curta TeNT não são necessários para atividade enzimática. Do mesmo modo, o término carboxila da cadeia curta não é necessário para atividade. Como um exemplo não limitante, os últimos 32 aminoácidos da cadeia curta BoNT/A (resíduos 417-448) não são necessários para atividade enzimática. Como outro exemplo não limitante, os últimos 31 aminoácidos da cadeia curta TeNT (resíduos 427-457) não são necessários para atividade enzimática. Deste modo, aspectos desta modalidade podem incluir cadeias curtas de toxina clostridial compreendendo um domínio enzimático tendo uma extensão de, por exemplo, no mínimo 350 aminoácidos, no mínimo 375 aminoácidos, no mínimo 400 aminoácidos, no mínimo 425 aminoácidos e no mínimo 450 aminoácidos. Outros aspectos desta modalidade podem incluir cadeias curtas de toxina clostridial compreendendo um domínio enzimático tendo uma extensão de, por exemplo, no máximo 350 aminoácidos, no máximo 375 aminoácidos, no máximo 400 aminoácidos, no máximo 425 aminoácidos e no máximo 450 aminoácidos.

O componente de protease não citotóxica da presente invenção preferencialmente compreende uma cadeia curta do sorotipo BoNT/A, BoNT/B ou BoNT/D (ou fragmento ou variante da mesma).

Os polipeptídeos da presente invenção, especialmente o componente de protease dos mesmos, podem ser PEGuilados – isto pode ajudar a aumentar a estabilidade, por exemplo, duração da ação do componente de protease. PEGuilação é particularmente preferencial quando a protease compreende uma BoNT/A, B ou C_1 protease. PEGuilação preferencialmente

inclui a adição de PEG ao N-término do componente de protease. A título de exemplo, o N-término de uma protease pode ser extendido com um ou mais resíduos aminoácidos (por exemplo, cisteína) , os quais podem ser os mesmos ou diferentes. Um ou mais dos referidos resíduos aminoácidos podem ter sua própria molécula PEG anexada (por exemplo, anexada de modo covalente) a estes. Um exemplo desta tecnologia é descrito na Publicação de Patente Internacional No. WO 2007/104567, a qual é incorporada em sua totalidade por meio de referência à mesma.

Um Domínio de Translocação é uma molécula que possibilita translocação de uma protease para dentro de uma célula-alvo de tal modo que uma ocorre expressão funcional da atividade de protease dentro do citosol da célula-alvo. Se qualquer molécula (por exemplo, uma proteína ou peptídeo) possui a função de translocação necessária da presente invenção pode ser confirmado por qualquer uma de uma série de ensaios convencionais.

Por exemplo, Shone C. (1987) descreve um ensaio *in vitro* empregando lipossomas, os quais são estimulados com uma molécula de teste. A presença da função de translocação necessária é confirmada por liberação dos lipossomas de K^+ e/ ou NAD marcado, os quais podem ser prontamente monitorados [vide Shone C. (1987) Eur. J. Biochem; vol. 167(1): pp. 175-180].

Um exemplo adicional é proporcionado por Blaustein R. (1987), o qual descreve uma porova *in vitro* simples empregando membranas bicamada de fosfolipídeos planares. As membranas são estimuladas com uma molécula de teste e a função de translocação necessária é confirmada por um aumento na condutância através das membranas referidas [vide Blaustein (1987) FEBS Letts; vol. 226, no. 1: pp. 115-120].

Metodologia adicional para possibilitar a avaliação de fusão de membrana e portanto identificação de Domínios de Translocação adequados para aplicação na presente invenção são proporcionadas por Methods in Enzymology Vol 220 and 221, Membrane Fusion Techniques, Parts A and B, Academic Press 1993.

A presente invenção também engloba domínios de translocação

variantes, na medida que os domínios de translocação variantes ainda demonstram a atividade de translocação necessária. A título de exemplo, uma variante pode ter no mínimo 70%, preferencialmente no mínimo 80%, mais preferencialmente no mínimo 90%, e o mais preferencialmente no mínimo 95% ou no mínimo 98% de homologia da sequência de aminoácidos com um domínio de translocação de referência. O termo fragmento, quando usado em relação a um domínio de translocação, significa um peptídeo tendo no mínimo 20, preferencialmente no mínimo 40, mais preferencialmente no mínimo 80, e o mais preferencialmente no mínimo 100 resíduos aminoácidos do domínio de translocação de referência. No caso de um domínio de translocação clostridial, o fragmento preferencialmente tem no mínimo 100, preferencialmente no mínimo 150, mais preferencialmente no mínimo 200, e o mais preferencialmente no mínimo 250 resíduos aminoácidos do domínio de translocação de referência (por exemplo, domínio H_N). Como com o componente 'fragmento' da porção de direcionamento (discutido acima), 'fragmentos' de translocação da presente invenção englobam fragmentos de domínios de translocação variantes com base nas sequências de referência.

O Domínio de Translocação é preferencialmente capaz de formação de poros permeáveis a íons em membranas lipídicas sob condições de baixo pH. Preferencialmente se descobriu o uso de somente as porções da molécula de proteína capazes de formação de poros dentro da membrana endossômica.

O Domínio de Translocação pode ser obtido a partir de uma fonte de proteína microbiana, em particular a partir de uma fonte de proteína bacteriana ou viral. Portanto, em uma modalidade, o Domínio de Translocação é um domínio de translocação de uma enzima, tal como uma toxina bacteriana ou proteína viral.

Está bem documentado que alguns domínios de moléculas de toxinas bacterianas têm a capacidade de formar os poros referidos. Também se sabe que alguns domínios de translocação de proteínas de fusão de membrana expressadas viralmente têm a capacidade de formar os poros referidos. Os domínios referidos podem ser empregados na presente inven-

ção.

O Domínio de Translocação pode ser de uma origem clostridial, tal como o domínio H_N (ou um componente funcional do mesmo). H_N significa uma porção ou fragmento da cadeia H de uma neurotoxina clostridial aproximadamente equivalente à metade de terminal amino da cadeia H, ou o domínio correspondente a este fragmento na cadeia H intacta. A cadeia H carece da função de ligação natural do componente H_C da cadeia H. A este respeito, a função H_C pode ser removida por eliminação da sequência de aminoácidos H_C (quer no nível de síntese de DNA, ou no nível pós-síntese por tratamento com nuclease ou protease). Alternativamente, a função de H_C pode ser inativada por tratamento química ou biológica. Deste modo, a cadeia H é incapaz de ligação ao Sítio de Ligação sobre uma célula-alvo à qual neurotoxina clostridial nativa (isto é, holotoxina) liga.

Exemplos de Domínios de Translocação (de referência) adequados incluem:

Neurotoxina Botulínica tipo A - resíduos aminoácidos (449-871)
Neurotoxina Botulínica tipo B - resíduos aminoácidos (441-858)
Neurotoxina Botulínica tipo C - resíduos aminoácidos (442-866)
Neurotoxina Botulínica tipo D - resíduos aminoácidos (446-862)
Neurotoxina Botulínica tipo E - resíduos aminoácidos (423-845)
Neurotoxina Botulínica tipo F - resíduos aminoácidos (440-864)
Neurotoxina Botulínica tipo G - resíduos aminoácidos (442-863)
Neurotoxina Tetânica - resíduos aminoácidos (458-879)

A sequência de referência identificada acima deve ser considerada um guia uma vez que ligeiras variações podem ocorrer de acordo com subsorotipos. A título de exemplo, a Patente dos Estados Unidos No. 2007/0166332 (a este incorporada por meio de referência à mesma) cita sequências clostridiais ligeiramente diferentes:

Neurotoxina Botulínica tipo A - resíduos aminoácidos (A449-K871)
Neurotoxina Botulínica tipo B - resíduos aminoácidos (A442-S858)
Neurotoxina Botulínica tipo C - resíduos aminoácidos (T450-N866)
Neurotoxina Botulínica tipo D - resíduos aminoácidos (D446-N862)

Neurotoxina Botulínica tipo E - resíduos aminoácidos (K423-K845)
Neurotoxina Botulínica tipo F - resíduos aminoácidos (A440-K864)
Neurotoxina Botulínica tipo G - resíduos aminoácidos (S447-S863)
Neurotoxina Tetânica - resíduos aminoácidos (S458-V879)

No contexto da presente invenção, uma variedade de regiões H_N de toxina Clostridial compreendendo um domínio de translocação podem ser úteis para em aspectos da presente invenção com a condição de que estes fragmentos ativos podem facilitar a liberação de uma protease não citotóxica (por exemplo, uma cadeia L clostridial) a partir de vesículas intracelulares para dentro do citoplasma da célula-alvo e portanto participam da execução do mecanismo celular global por meio do qual uma toxina clostridial cliva proteoliticamente um substrato. As regiões H_N das cadeia longacadeias longas de toxinas Clostridiais têm cerca de 410 a 430 aminoácidos de extensão e compreendem um domínio de translocação. Pequisa mostrou que toda a extensão de uma região H_N de uma cadeia pesada de toxina Clostridial não é necessária para a atividade de translocação do domínio de translocação. Deste modo, aspectos desta modalidade podem incluir regiões H_N de toxina clostridial compreendendo um domínio de translocação tendo uma extensão de, por exemplo, no mínimo 350 aminoácidos, no mínimo 375 aminoácidos, no mínimo 400 aminoácidos e no mínimo 425 aminoácidos. Outros aspectos desta modalidade podem incluir regiões H_N de toxina clostridial compreendendo domínio de translocação tendo uma extensão de, por exemplo, no máximo 350 aminoácidos, no máximo 375 aminoácidos, no máximo 400 aminoácidos e no máximo 425 aminoácidos.

Para detalhes adicionais sobre a base genética da produção de toxina em *Clostridium botulinum* e *C. tetani*, foi consultado Henderson *et al* (1997) em *The Clostridia: Molecular Biology and Pathogenesis, Academic press.*

O termo H_N engloba porções H_N de neurotoxinas que ocorrem naturalmente, e porções H_N modificadas tendo sequências de aminoácidos que não ocorrem na natureza e/ ou resíduos aminoácidos sintéticos, contanto que as porções H_N modificadas ainda demonstrem a função de transloca-

ção mencionada acima.

Alternativamente, o Domínio de Translocação pode ser de uma origem não clostridial. Exemplos de origens de Domínios de Translocação (de referência) não clostridiais incluem, mas não estão restritos a, o domínio de translocação da toxina diftérica [O'Keefe *et al.,* Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1992) 89, 6202-6206; Silverman *et al.,* J. Biol. Chem. (1993) 269, 22524-22532; e London, E. (1992) *Biochem. Biophys. Acta., 1112, pp.25-51*], o domínio de translocação de exotoxina de *Pseudomonas* tipo A [Prior *et al.* Biochemistry (1992) 31, 3555-3559], os domínios de translocação da toxina do anthrax [Blanke *et al.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1996) 93, 8437-8442], uma variedade de peptídeos fusogênicos ou hidrofóbicos de função de translocação [Plank *et al.* J. Biol. Chem. (1994) 269, 12918-12924; e Wagner *et al* (1992) *PNAS, 89, pp.7934-7938*], e peptídeos anfifílicos [Murata *et al* (1992) *Biochem., 31, pp.1986-1992*]. O Domínio de Translocação pode espelhar o Domínio de Translocação presente em uma proteína que ocorre naturalmente, ou pode incluir variações de aminoácidos na medida que as variações não destruam a capacidade de translocação do Domínio de Translocação.

Exemplos particulares de Domínios de Translocação (de referência) virais adequados para aplicação na presente invenção incluem alguns domínios de transloção de proteínas de fusão de membrana expressadas viralmente. Por exemplo, Wagner *et al.* (1992) e Murata *et al.* (1992) descrem a função de translocação (isto é, fusão de membrana e vesiculação) de uma série de peptídeos fusogênicos e anfifílicos derivados da região de N-terminal de hemaglutinina do vírus da influenza. Outras proteínas de fusão de membrana expressadas viralmente conhecidos tendo a atividade de translocação desejada são um domínio de translocação de um peptídeo fusogênico do Semliki Forest Virus (SFV), um domínio de translocação da glicoproteína G do vírus da estomatite vesicular (VSV), um domínio de translocação da proteína F de SER vírus e um domínio de translocação da glicoproteína do envelope do Foamy virus. Proteínas Aspike viralmente codificadas têm aplicação particular no contexto da presente invenção, por exemplo, a proteína E1 de SFV e a proteína G da proteína G de VSV.

Aplicação dos Domínios de Translocação (de referência) listados na Tabela (abaixo) inclui uso de variantes de sequências dos mesmos. Uma variante pode compreender uma ou mais substituições de ácidos nucleicos conservativas e/ ou eliminações ou inserções de ácidos nucleicos, com a condição de que a variante possui a função de translocação necessária. Uma variante também pode compreender uma ou mais substituições de aminoácidoss e/ ou eliminações ou inserções de aminoácidos, na medida que a variante possui a função de translocação necessária.

Fonte do Domínio de Translocação	Resíduos aminoácidos	Referências
Toxina diftérica	194-380	Silverman *et al.*, 1994, J. Biol. Chem. 269, 22524-22532 London E., 1992, Biochem. Biophys. Acta., 1113, 25-51
Domínio II de exotoxina de pseudomonas	405-613	Prior *et al.*, 1992, Biochemistry 31, 3555-3559 Kihara & Pastan, 1994, Bioconj Chem. 5, 532-538
Hemaglutinina do vírus da Influenza	GLFGAIAGFIENGWEGMIDGWYG, e Variantes dos mesmos	Plank *et al.*, 1994, J. Biol. Chem. 269, 12918-12924 Wagner *et al.*, 1992, PNAS, 89, 7934-7938 Murata *et al.*, 1992, Biochemistry 31, 1986-1992
Proteína fusogênica do Semliki Forest vírus	Domínio de translocação	Kielian *et al.*, 1996, J Cell Biol. 134(4), 863-872
Glicoproteína G do vírus da Estomatite Vesicular	118-139	Yao *et al.*, 2003, Virology 310(2), 319-332
Proteína F do vírus SER	Domínio de translocação	Seth *et al.*, 2003, J Virol 77(11) 6520-6527
Glicoproteína do envelope do Foamy virus	Domínio de translocação	Picard-Maureau *et al.*, 2003, J Virol. 77(8), 4722-4730

Os polipeptídeos da presente invenção podem compreender a-

dicionalmente um domínio facilitador de translocação. O referido domínio facilita a liberação da protease não citotóxica para dentro do citosol da célula-alvo e são descritos, por exemplo, na Publicação de Patente Internacional No. WO 08/008803 e na Publicação de Patente Internacional No. WO 08/008805, cada uma das quais é incorporada aqui, a este requerimento de patente, por meio de referência às mesmas.

A título de exemplo, domínios facilitadores de translocação adequados incluem um domínio de peptídeo fusogênico de vírus envelopado, por exemplo, domínios de peptídeos fusogênicos adequados incluem domínio de peptídeo fusogênico do vírus da influenza (por exemplo, domínio de peptídeo fusogênico do vírus da influenza A de 23 aminoácidos), domínio de peptídeo fusogênico do alfavírus (por exemplo, domínio de peptídeo fusogênico do Semliki Forest vírus de 26 aminoácidos), domínio de peptídeo fusogênico do vesiculovírus (por exemplo, domínio de peptídeo fusogênico do vírus da estomatite vesicular de 21 aminoácidos), domínio de peptídeo fusogênico do respirovírus (por exemplo, domínio de peptídeo fusogênico do Sendai vírus de 25 aminoácidos), domínio de peptídeo fusogênico do morbiliivírus (por exemplo, domínio de peptídeo fusogênico do vírus da cinomose canina de 25 aminoácidos), domínio de peptídeo fusogênico do avulavírus (por exemplo, domínio de peptídeo fusogênico do vírus da doença de Newcastle de 25 aminoácidos), domínio de peptídeo fusogênico do henipavírus (por exemplo, domínio de peptídeo fusogênico do Hendra vírus de 25 aminoácidos), domínio de peptídeo fusogênico do metapneumovírus (por exemplo, domínio de peptídeo fusogênico do metapneumovírus Humano de 25 aminoácidos) ou domínio de peptídeo fusogênico do spumavírus tal como domínio de peptídeo fusogênico do foamy virus simiesco; ou fragmentos ou variantes dos mesmos.

A título de exemplo adicional, um domínio facilitador de translocação pode compreender um domínio H_{CN} de toxina Clostridial ou um fragmento ou variante do mesmo. Em mais detalhes, um domínio facilitador de translocação H_{CN} de toxina Clostridial pode ter uma extensão de no mínimo 200 aminoácidos, no mínimo 225 aminoácidos, no mínimo 250 aminoácidos,

no mínimo 275 aminoácidos. A este respeito, um domínio facilitador de translocação H_{CN} de toxina Clostridial preferencialmente tem uma extensão de no máximo 200 aminoácidos, no máximo 225 aminoácidos, no máximo 250 aminoácidos, ou no máximo 275 aminoácidos. Exemplos (de referência) específicos incluem:

Neurotoxina Botulínica tipo A - resíduos aminoácidos (872-1110)
Neurotoxina Botulínica tipo B - resíduos aminoácidos (859-1097)
Neurotoxina Botulínica tipo C - resíduos aminoácidos (867-1111)
Neurotoxina Botulínica tipo D - resíduos aminoácidos (863-1098)
Neurotoxina Botulínica tipo E - resíduos aminoácidos (846-1085)
Neurotoxina Botulínica tipo F - resíduos aminoácidos (865-1105)
Neurotoxina Botulínica tipo G - resíduos aminoácidos (864-1105)
Neurotoxina Tetânica - resíduos aminoácidos (880-1127)

As posições de sequências acima podem variar um pouco de acordo com sorotipo/ subtipo, e exemplos adicionais de domínios H_{CN} de toxina Clostridial (de referência) adequados incluem:

Neurotoxina Botulínica tipo A - resíduos aminoácidos (874-1110)
Neurotoxina Botulínica tipo B - resíduos aminoácidos (861-1097)
Neurotoxina Botulínica tipo C - resíduos aminoácidos (869-1111)
Neurotoxina Botulínica tipo D - resíduos aminoácidos (865-1098)
Neurotoxina Botulínica tipo E - resíduos aminoácidos (848-1085)
Neurotoxina Botulínica tipo F - resíduos aminoácidos (867-1105)
Neurotoxina Botulínica tipo G - resíduos aminoácidos (866-1105)
Neurotoxina Tetânica - resíduos aminoácidos (882-1127)

Qualquer um dos domínios de facilitação descritos acima pode ser combinado com quaisquer dos peptídeos dos domínios de translocação previamente descritos que são adequados para aplicação na presente invenção. Deste modo, a título de exemplo, um domínio de facilitação não clostridial pode ser combinado com peptídeo do domínio de translocação não clostridial ou com peptídeo do domínio de translocação clostridial. Alternativamente, um domínio facilitador de translocação H_{CN} de toxina Clostridial pode ser combinado com um peptídeo do domínio de translocação não clos-

tridal. Alternativamente, um domínio facilitador H_{CN} de toxina Clostridial pode ser combinado ou com um peptídeo do domínio de translocação clostridial, cujos exemplos incluem:

Neurotoxina Botulínica tipo A - resíduos aminoácidos (449-1110)
Neurotoxina Botulínica tipo B - resíduos aminoácidos (442-1097)
Neurotoxina Botulínica tipo C - resíduos aminoácidos (450-1111)
Neurotoxina Botulínica tipo D - resíduos aminoácidos (446-1098)
Neurotoxina Botulínica tipo E - resíduos aminoácidos (423-1085)
Neurotoxina Botulínica tipo F - resíduos aminoácidos (440-1105)
Neurotoxina Botulínica tipo G - resíduos aminoácidos (447-1105)
Neurotoxina Tetânica - resíduos aminoácidos (458-1127)

Homologia de sequência:

Qualquer um de uma variedade de métodos de alinhamento de sequência pode ser usado para determinar a percentagem de identidade, incluindo, sem limitação, métodos globais, métodos locais e métodos híbridos, tais como, por exemplo, métodos de aproximação de segmentos. Protocolos para determinar a percentagem de identidade são procedimentos de rotina dentro do âmbito de uma pessoa versada na técnica. Métodos globais alinham sequências do início ao fim da molécula e determinm o melhor alinhamento adicionando escores de pares de resíduos individuais e impondo penalidades de intervalo. Métodos não limitantes incluem, por exemplo, CLUSTAL W, vide, por exemplo, Julie D. Thompson *et al.*, CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting, Position - Specific Intervalo Penalties and Weight Matrix Choice, 22(22) Nucleic Acids Research 4673-4680 (1994); e refinamento iterativo, vide, por exemplo, Osamu Gotoh, Significant Improvement in Accuracy of Multiple Protein. Sequence Alignments by Iterative Refinement as Assessed by Reference to Structural Alignments, 264(4) J. Mol. Biol. 823-838 (1996). Métodos locais alinham sequências por identificação de um ou mais motivos conservados partilhados por todas as sequências de entrada. Métodos não limitante incluem, por exemplo, Match-box, vide, por exemplo, Eric Depiereux and Ernest Feytmans, Match-Box: A Fundamentally New Al-

gorithm for the Simultaneous Alignment of Several Protein Sequences, 8(5) CABIOS 501 -509 (1992); amostragem de Gibbs, vide, por exemplo, C. E. Lawrence *et al.*, Detecting Subtle Sequence Signals: A Gibbs Sampling Strategy for Multiple Alignment, 262 (5131) Science 208-214 (1993); Align-M, vide, por exemplo, Ivo Van Walle *et al.*, Align-M - A New Algorithm for Multiple Alignment of Highly Divergent Sequences, 20(9) Bioinformatics: 1428-1435 (2004).

Deste modo, a percentagem da identidade de sequência é determinada por métodos convencionais. Vide, por exemplo, Altschul *et al.*, Bull. Math. Bio. 48: 603-16, 1986 e Henikoff and Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915-19, 1992. Em resumo, duas sequências de aminoácidos são alinhadas para otimizar os escores de alinhamento usando uma penalidade de abertura de intervalo de 10, uma penalidade de extensão de intervalo de 1, e a matriz de classificação "blosum 62" de Henikoff e Henikoff (ibid.) conforme mostrado abaixo (aminoácidos são indicados pelos códigos de uma letra de rotina).

Escores de alinhamento para determinação da identidade de sequência

A R N D C Q E G H I L K M F P S T W Y V

A 4

R -1 5

N -2 0 6

D -2 -2 1 6

C 0 -3 -3 -3 9

Q -1 1 0 0 -3 5

E -1 0 0 2 -4 2 5

G 0 -2 0 -1 -3 -2 -2 6

H -2 0 1 -1 -3 0 0 -2 8

I -1 -3 -3 -3 -1 -3 -3 -4 -3 4

L -1 -2 -3 -4 -1 -2 -3 -4 -3 2 4

K -1 2 0 -1 -3 1 1 -2 -1 -3 -2 5

M -1 -1 -2 -3 -1 0 -2 -3 -2 1 2 -1 5

F -2 -3 -3 -3 -2 -3 -3 -3 -1 0 0 -3 0 6

P -1 -2 -2 -1 -3 -1 -1 -2 -2 -3 -3 -1 -2 -4 7

S 1 -1 1 0 -1 0 0 0 -1 -2 -2 0 -1 -2 -1 4

T 0 -1 0 -1 -1 -1 -1 -2 -2 -1 -1 -1 -1 -2 -1 1 5

W -3 -3 -4 -4 -2 -2 -3 -2 -2 -3 -2 -3 -1 1 -4 -3 -2 11

Y -2 -2 -2 -3 -2 -1 -2 -3 2 -1 -1 -2 -1 3 -3 -2 -2 2 7

V 0 -3 -3 -3 -1 -2 -2 -3 -3 3 1 -2 1 -1 -2 -2 0 -3 -1 4

A percentagem de identidade é em seguida calculada como:

$$\frac{\text{Número total de combinações idênticas}}{\text{[extensão da sequência mais longa mais o número de intervalos introduzidos dentro da sequência mais longa de modo a alinhar as duas sequências]}} \times 100$$

Polipeptídeos substancialmente homólogos são caracterizados como tendo uma ou mais substituições, eliminações ou adições de aminoácidos. Estas alterações são preferencialmente de uma natureza menor, isto é, substituições de aminoácidos conservadoras (vide abaixo) e outras substituições que não afetam significativamente o dobramento ou a atividade do polipeptídeo; pequenas eliminações, tipicamente de um a cerca de 30 aminoácidos; e pequenas extensões de terminal amino ou carboxila, tais como um resíduo metionina de terminal amino, um pequeno peptídeo ligante de até cerca de 20 a 25 resíduos, ou uma etiqueta de afinidade.

Substituições de aminoácidos conservadoras

Básicas:	arginina
	lisina
	histidina
Acidíferas:	ácido glutâmico
	ácido aspártico
Polares:	glutamina
	asparagina
Hidrofóbicas:	leucina
	isoleucina
	valina

Aromáticas:	fenilalanina
	triptofano
	tirosina
Pequenas:	glicina
	alanina
	serina
	treonina
	metionina

Além dos 20 aminoácidos de rotina, aminoácidos de não de rotina (tais como 4-hidroxiprolina, 6-*N*-metil lisina, ácido 2-aminoisobutírico, isovalina e α -metil serina) podem ser substituídos por resíduos aminoácidos dos polipeptídeos da presente invenção. Um número limitado de aminoácidos não conservativos, aminoácidos que não são codificados pelo código genético, e aminoácidos não naturais podem ser substituídos por resíduos aminoácidos de polipeptídeos clostridiais. Os polipeptídeos da presente invenção também podem compreender resíduos aminoácidos que não ocorrem naturalmente.

Aminoácidos que não ocorrem naturalmente incluem, sem limitação, trans-3-metilprolina, 2,4-metano-prolina, cis-4-hidroxiprolina, trans-4-hidroxi-prolina, N-metilglicina, allo-treonina, metil-treonina, hidroxietilcisteína, hidroxietilhomo-cisteína, nitro-glutamina, homoglutamina, ácido pipecólico, terc-leucina, norvalina, 2-azafenilalanina, 3-azafenil-alanina, 4-azafenil-alanina, e 4-fluorofenilalanina. Vários métodos são conhecidos na técnica para incorporação de resíduos aminoácidos que não ocorrem naturalmente em proteínas. Por exemplo, pode ser empregado um sistema *in vitro* em que mutações não senso são suprimidas usando tRNAs supressores quimicamente aminoacilados. Métodos para sintetizar aminoácidos e aminoacilar tRNA são conhecidos na técnica. Transcripção e translação de plasmídeos contendo mutações não senso são realizadas em um sistema livre de células compreendendo um extrato de *E. coli* S30 e enzimas e outros reagentes disponíveis comercialmente. Proteínas são purificadas por cromatografia. Vide, por exemplo, Robertson *et al.*, J. Am. Chem. Soc. 113:

2722, 1991; Ellman *et al.*, Methods Enzymol. 202: 301, 1991; Chung *et al.*, Science 259: 806-9, 1993; e Chung *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 10145-9, 1993). Em um segundo método, é realizada translação em oócitos de Xenopus por microinjeção de mRNA mutado e tRNAs supressores quimicamente aminoacilados (Turcatti *et al.*, J. Biol. Chem. 271: 19991-8, 1996). Dentro de um terceiro método, células de *E. coli* são cultivadas na ausência de um aminoácido natural que deve ser substituído (por exemplo, fenilalanina) e na presença do um ou mais aminoácidos que não ocorrem naturalmente desejados (por exemplo, 2-azafenilalanina, 3-azafenilalanina, 4-azafenilalanina, ou 4-fluorofenilalanina). O aminoácido que não ocorre naturalmente é incorporado no polipeptídeo ao invés de seu complemento natural. Vide, Koide *et al.*, Biochem. 33: 7470-6, 1994. Resíduos aminoácidos que ocorrem naturalmente podem ser convertidos em espécies que não ocorrem naturalmente por modificação química *in vitro*. Modificação química pode ser combinada com mutagênese sítiodirigida para expandir adicionalmente a faixa de substituições (Wynn and Richards, Protein Sci. 2: 395-403, 1993).

Um número limitado de aminoácidos não conservativos, aminoácidos que não são codificados pelo código genético, aminoácidos que não ocorrem naturalmente, e aminoácidos não naturais podem ser substituídos por resíduos aminoácidos de polipeptídeos da presente invenção.

Aminoácidos essenciais nos polipeptídeos da presente invenção podem ser identificados de acordo com procedimentos conhecidos na técnica, tais como mutagênese sítio-dirigida ou mutagênese de triagem de alanina (Cunningham and Wells, Science 244: 1081-5, 1989). Sítios de interação biológica também podem ser determinados por análise física da estrutura, conforme determinado por técnicas tais como ressonância magnética nuclear, cristalografia, difração de elétrons ou marcação por fotoafinidade, em combinação com mutação de aminoácidos de sítios de contato putativos. Vide, por exemplo, de Vos *et al.*, Science 255: 306-12, 1992; Smith *et al.*, J. Mol. Biol. 224: 899-904, 1992; Wlodaver *et al.*, FEBS Lett. 309: 59-64, 1992. As identitdads de aminoácidos essenciais também podem ser inferidas a

partir da análise de homologias com componentes relacionados (por exemplo, os componentes de translocação ou de protease) dos polipeptídeos da presente invenção.

Múltiplas substituições de aminoácido podem ser feitas e testadas usando métodos conhecidos de mutagênese e triagem, tais como os revelados por Reidhaar-Olson and Sauer (Science 241: 53-7, 1988) ou Bowie and Sauer (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 2152-6, 1989). Em resumo, estes autores revelam métodos para randomizar simultaneamente duas ou mais posições em um polipeptídeo, selecionando para polipeptídeo funcional, e em seguida sequenciando os polipeptídeos mutagenizados para determinar o espectro de substituições possíveis em cada posição. Outros métodos que podem ser usados incluem display de fago (por exemplo, Lowman *et al.*, Biochem. 30: 10832-7, 1991; Ladner *et al.*, Patente dos Estados Unidos No. 5.223.409; Huse, publicação WIPO de Patente Internacional No. WO 92/06204) e mutagênese direcionada para região (Derbyshire *et al.*, Gene 46: 145, 1986; Ner *et al.*, DNA 7: 127, 1988).

Agora segue uma breve descrição das figuras, as quais ilustram aspectos e/ ou modalidades da presente invenção.

Figura 1 - Purificação da proteína de fusão LH_N/D-CT-CST28

Usando a metodologia resumida no Exemplo 5, uma proteína de fusão LH_N/D-CT-CST28 foi purificada a partir de células de *E. coli* BL21 (DE3). Em resumo, os produtos solúveis obtidos depois de disrupção celular foram aplicados a uma coluna de captura por afinidade carregada com níquel. As proteínas ligadas foram eluídas com 200 mM de imidazol, tratadas com enteroquinase para ativar a proteína de fusão e em seguida reaplicadas a uma segunda coluna de captura por afinidade carregada com níquel. Amostras do procedimento de purificação foram avaliadas por SDS-PAGE. *Alameda 1*: Primeiro eluente da coluna de Sepharose de quelação de níquel, *Alameda 2*: Segundo eluente da coluna de Sepharose de quelação de níquel sob condições não redutoras, *Alameda 3*: Segundo eluente da coluna de Sepharose de quelação de níquel sob condições redutoras, *Alameda 4*: Marcadores da massa molecular (kDa).

Figura 2 - Purificação da proteína de fusão LH_N/A-CT-SST14

Usando a metodologia resumida no Exemplo 6, uma proteína de fusão LH_N/A-CT-SST14 foi purificada a partir de células de *E. coli* BL21 (DE3). Em resumo, os produtos solúveis obtidos depois de disrupção celular foram aplicados a uma coluna de captura por afinidade carregada com níquel. As proteínas ligadas foram eluídas com 200 mM de imidazol, tratadas com Fator Xa para ativar a proteína de fusão e em seguida reaplicadas a uma segunda coluna de captura por afinidade carregada com níquel. Amostras do procedimento de purificação foram avaliadas por SDS-PAGE. *Alameda 1*: Primeiro eluente da coluna de Sepharose de quelação de níquel, *Alameda 2*: Marcadores da massa molecular (kDa), *Alamedas 3* e *4*: Segundo eluente da coluna de Sepharose de quelação de níquel sob condições não redutoras, *Alamedas 5* e *6*: Segundo eluente da coluna de Sepharose de quelação de níquel sob condições redutoras.

Figura 3 - Atividade de SST-LH_N/A em células endócrinas cultivadas (AtT20)

A figura 3a mostra inibição da secreção de ACTH by SST-LH_N/A, e a figura 3b mostra clivagem correspondente de SNAP-25 por SST-LH_N/A.

Figura 4 - Atividade de SST-LH_N/D em células endócrinas cultivadas (GH3)

A figura 4 mostra o efeito da liberação do hormônio do crescimento por células GH3. Maiores dosagens de administração de SST-LH_N/D resultam em uma maior inibição da liberação do hormônio do crescimento.

Figura 5 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis de IGF-1 de rato *in vivo*

A figura 5 mostra os efeitos da administração i.v. de CP-GHRH-LHD (SXN101000) sobre os níveis de IGF-1 de rato 5 dias depois de tratamento em comparação com um controle de somente veículo.

Figura 6 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis de IGF-1 de rato *in vivo*

A figura 6 mostra os efeitos da administração i.v. de CP-GHRH-LHD (SXN101000) sobre os níveis de IGF-1 de rato no dia, 1 a 8 dias depois

de tratamento em comparação com um controle de somente veículo. Devido ao bloqueio da cânula nos dias 9 e 10 deve ser considerado um número n muito pequeno.

Figura 7 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis do hormônio do crescimento de rato *in vivo*

A figura 7b mostra os efeitos da administração i.v. de CP-GHRH-LHD (SXN101000) sobre os níveis do hormônio do crescimento de rato no dia, 5 dias depois de tratamento em comparação com um controle apenas com veículo (figura 7a) e infusão de octreotida (figura 7c).

SEQ ID NOS

1. Sequência de DNA de LH_N/A
2. Sequência de DNA de LH_N/B
3. Sequência de DNA de LH_N/C
4. Sequência de DNA de LH_N/D
5. Sequência de DNA do ligante CP-EN-GS15-SST28 humano
6. Sequência de DNA do ligante CT-GS20-CST28 humano
7. Sequência de proteína da fusão CP-CST14-GS20-LHD
8. Sequência de proteína da fusão CP-CST14-GS30-LHD
9. Sequência de proteína da fusão CP-CST28-GS20-LHD
10. Sequência de proteína da fusão CP-CST28-GS30-LHD
11. Sequência de proteína da fusão CP-SST14-GS20-LHD
12. Sequência de proteína da fusão CP-SST14-GS30-LHD
13. Sequência de proteína da fusão CP-SST28-GS20-LHD
14. Sequência de proteína da fusão CP-SST28-GS30-LHD
15. Sequência de proteína da fusão CT-CST14-GS20-LHD
16. Sequência de proteína da fusão CT-CST14-GS30-LHD
17. Sequência de DNA da fusão CT-CST28-GS20-LHD
18. Sequência de proteína da fusão CT-CST28-GS20-LHD
19. Sequência de proteína da fusão CT-CST28-GS30-LHD
20. Sequência de proteína da fusão CT-SST14-GS15-L(#Fxa)HD

21. Sequência de proteína da fusão CT-SST14-GS30-LHD
22. Sequência de proteína da fusão CT-SST28-GS20-LHD
23. Sequência de proteína da fusão CT-SST28-GS30-LHD
24. Sequência de proteína da fusão CT-SST14-GS35-LHC
25. Sequência de DNA da fusão CP-GS15-SST28-LHA
26. Sequência de proteína da fusão CP-GS15-SST28-LHA
27. Sequência de proteína da fusão CT-SST28-GS15-LHB
28. Sequência de proteína da fusão CT-CST14-GS20-LHC
29. Sequência de proteína da fusão CT-CST17-GS25-LHC
30. Sequência de proteína da fusão CT-CST29-GS15-LHA
31. Sequência de proteína da fusão CT-CST29-GS30-LHB
32. Sequência de DNA de IgA-$H_N$tet
33. Sequência de proteína da fusão CT-GHRP-LHC
34. Sequência de proteína da fusão CT-GHRH-LHD
35. Sequência de proteína da fusão CT-GHRP-LHD
36. Sequência de proteína da fusão CT-grelina-LHA
37. Sequência de proteína da fusão IgA-$H_N$tet-CT-SST14
38. Sequência de proteína da fusão IgA-$H_N$tet-CT-GHRP
39. Sequência de proteína da fusão CT-grelina S3W-LHA
40. Sequência de proteína da fusão CT-GRP-LHD
41. Sequência de proteína da fusão CT-GRP-LHB
42. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH29-LHD
43. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHA
44. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHC
45. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHD
46. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHD N10-PL5
47. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHD N10-HX12
48. Sequência de proteína da fusão CP-UTS-LHA
49. Sequência de proteína de LH_N/A
50. Sequência de proteína de LH_N/B

51. Sequência de proteína de LH_N/C
52. Sequência de proteína de LH_N/D
53. Sequência de proteína de IgA-$H_N$tet
54. Peptídeo Octreotida sintetizado
55. Peptídeo agonista de GHRH sintetizado
56. Peptídeo antagonista de GHRH sintetizado
57. Sequência de proteína da fusão CP-MCH-LHD
58. Sequência de proteína da fusão CT-KISS-LHD
59. Sequência de proteína da fusão CT-PrRP-LHA
60. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-27-LHD
61. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-28-LHD
62. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-29-LHD
63. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-44-LHD
64. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-40-LHD
65. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala9-LHD
66. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala22-LHD
67. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Lys11_1-29-LHD
68. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Lys11_Arg12_1-29-LHD
69. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Asn11_1-29-LHD
70. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Lys20_1-29-LHD
71. Sequência de proteína da fusão CP-

HS_GHRH_Ala8_Lys11_Lys20_1-29-LHD

72. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Asn20_1-29-LHD

73. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Asn12_1-29-LHD

74. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Asn21_1-29-LHD

75. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Glu_7_1-29-LHD

76. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Glu_10_1-29LHD

77. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Glu_13_1-29-LHD

78. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8-LHD

79. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Glu8_1-29-LHD

80. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala15_1-27-LHD

81. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala15-LHD

82. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Ala15_1-29-LHD

83. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_9_15_22_27-LHD

84. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_9_15_22-LHD

85. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_HVQAL_1-32-LHD

86. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_HVSAL_1-29-LHD

87. Sequência de proteína da fusão CP-

HS_GHRH_HVTAL_1-29-LHD

88. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_QALN-LHD

89. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_QAL-LHD

90. Sequência de proteína da fusão CP-hGHRH29 N8A M27L-LHD

91. Sequência de proteína da fusão CP-hGHRH29 N8A K12N M27L-LHD

92. Sequência de proteína da fusão N-terminal-hGHRH29 N8A M27L-LHD

93. Sequência de proteína da fusão GnRH-C humana

94. Sequência de proteína da fusão GnRH -D GS 20 humana

SUMÁRIO DE EXEMPLOS

Exemplo 1 - Preparação de um constructo de estrutura principal LHA

Exemplo 2 - Construção de LHA-CP-SST28

Exemplo 3 - Expressão e purificação de uma proteína de fusão LHA-CP-SST28

Exemplo 4 - Construção de LHD-CT-CST28

Exemplo 5 - Expressão e purificação de uma proteína de fusão LHD-CT-CST28

Exemplo 6 - Conjugação química de LH_N/A a porção de direcionamento de SST (SST TM)

Exemplo 7 - Atividade de SST-LHA em células endócrinas cultivadas (AtT20)

Exemplo 8 - Atividade de SST-LHD em células neuroendócrinas cultivadas (GH3)

Exemplo 9 - Método para aliviar sintomas acromegálicos por redução dos níveis elevados de GH e de IGF-1 resultantes de adenoma da pituitária

Exemplo 10 - Método para normalizar dedos hirsutos inchados por redução dos níveis elevados de GH e de IGF-1 resultantes de adenoma da pituitária

Exemplo 11 - Método para melhorar as consequências de ressurgimento de adenoma da pituitária secretor de hormônio do crescimento

Exemplo 12 - Método para tratar pacientes acromegálicos resistentes a análogos de somatostatina

Exemplo 13 - Método para tratar doença de Cushing em pacientes intolerantes a análogos de somatostatina

Exemplo 14 - Método para reverter impotência sexual feminina por tratamento de prolactinoma

Exemplo 15 - Método para produzir perda de peso por tratamento de insulinoma

Exemplo 16 - Método para tratar glucagonoma

Exemplo 17 - Método para tratar diarreia e vermelhidão causados por VIPoma

Exemplo 18 - Método para tratar gastrinoma

Exemplo 19 - Método para tratar tireotoxicose causada por tirotrofinoma

Exemplo 20 - Método para tratar dilatação dos tecidos moles recorrente causada por acromegalia

Exemplo 21 - Método para tratar hirsutismo facial excessivo causado por doença de Cushing

Exemplo 22 - Método para tratar galactorreia masculina causada por prolactinoma

Exemplo 23 - Método para tratar múltiplos sintomas causados por insulinoma

Exemplo 24 - Método para tratar pacientes acromegálicos resistentes a análogos de somatostatina

Exemplo 25 - Método para tratar doença de Cushing em pacientes intolerantes a análogos de somatostatina

Exemplo 26 - Método para reverter impotência sexual feminina

por tratamento de prolactinoma

Exemplo 27 - Método para tratar doença de Cushing

Exemplo 28 - Método para tratar gastrinoma

Exemplo 29 - Método para aliviar sintomas acromegálicos por redução dos níveis elevados de GH e de IGF-1 resultantes de adenoma da pituitária

Exemplo 30 - Método para tratar pacientes acromegálicos resistentes a análogos de somatostatina

Exemplo 31 - Método para tratar acromegalia

Exemplo 32 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis de IGF-1 de rato *in vivo*

Exemplo 33 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis de IGF-1 de rato *in vivo*

Exemplo 34 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis do hormônio do crescimento de rato *in vivo*

SEQ IDs

1. Sequência de DNA de LH_N/A

ggatccATGGAGTTCGTTAACAAACAGTTCAACTATAAAGACCCAGTTAAC
GGTGTTGACATTGCTTACATCAAAATCCCGAACGCTGGCCAGATGCAGC
CGGTAAAGGCATTCAAAATCCACAACAAAATCTGGGTTATCCCGGAACG
TGATACCTTTACTAACCCGGAAGAAGGTGACCTGAACCCGCCACCGGA
AGCGAAACAGGTGCCGGTATCTTACTATGACTCCACCTACCTGTCTACC
GATAACGAAAAGGACAACTACCTGAAAGGTGTTACTAAACTGTTCGAGC
GTATTTACTCCACCGACCTGGGCCGTATGCTGCTGACTAGCATCGTTCG
CGGTATCCCGTTCTGGGGCGGTTCTACCATCGATACCGAACTGAAAGTA
ATCGACACTAACTGCATCAACGTTATTCAGCCGGACGGTTCCTATCGTT
CCGAAGAACTGAACCTGGTGATCATCGGCCCGTCTGCTGATATCATCCA
GTTCGAGTGTCTGAGCTTTGGTCACGAAGTTCTGAACCTCACCCGTAAC
GGCTACGGTTCCACTCAGTACATCCGTTTCTCTCCGGACTTCACCTTCG
GTTTTGAAGAATCCCTGGAAGTAGACACGAACCCACTGCTGGGCGCTG
GTAAATTCGCAACTGATCCTGCGGTTACCCTGGCTCACGAACTGATTCA
TGCAGGCCACCGCCTGTACGGTATCGCCATCAATCCGAACCGTGTCTT

CAAAGTTAACACCAACGCGTATTACGAGATGTCCGGTCTGGAAGTTAGC
TTCGAAGAACTGCGTACTTTTGGCGGTCACGACGCTAAATTCATCGACT
CTCTGCAAGAAAACGAGTTCCGTCTGTACTACTATAACAAGTTCAAAGAT
ATCGCATCCACCCTGAACAAAGCGAAATCCATCGTGGGTACCACTGCTT
CTCTCCAGTACATGAAGAACGTTTTTAAAGAAAAATACCTGCTCAGCGAA
GACACCTCCGGCAAATTCTCTGTAGACAAGTTGAAATTCGATAAACTTTA
CAAAATGCTGACTGAAATTTACACCGAAGACAACTTCGTTAAGTTCTTTA
AAGTTCTGAACCGCAAAACCTATCTGAACTTCGACAAGGCAGTATTCAA
AATCAACATCGTGCCGAAAGTTAACTACACTATCTACGATGGTTTCAACC
TGCGTAACACCAACCTGGCTGCTAATTTTAACGGCCAGAACACGGAAAT
CAACAACATGAACTTCACAAAACTGAAAAACTTCACTGGTCTGTTCGAGT
TTTACAAGCTGCTGTGCGTCGACGGCATCATTACCTCCAAAACTAAATCT
GACGATGACGATAAAAACAAAGCGCTGAACCTGCAGTGTATCAAGGTTA
ACAACTGGGATTTATTCTTCAGCCCGAGTGAAGACAACTTCACCAACGA
CCTGAACAAAGGTGAAGAAATCACCTCAGATACTAACATCGAAGCAGCC
GAAGAAAACATCTCGCTGGACCTGATCCAGCAGTACTACCTGACCTTTA
ATTTCGACAACGAGCCGGAAAACATTTCTATCGAAAACCTGAGCTCTGA
TATCATCGGCCAGCTGGAACTGATGCCGAACATCGAACGTTTCCCAAAC
GGTAAAAAGTACGAGCTGGACAAATATACCATGTTCCACTACCTGCGCG
CGCAGGAATTTGAACACGGCAAATCCCGTATCGCACTGACTAACTCCGT
TAACGAAGCTCTGCTCAACCCGTCCCGTGTATACACCTTCTTCTCTAGC
GACTACGTGAAAAAGGTCAACAAAGCGACTGAAGCTGCAATGTTCTTGG
GTTGGGTTGAACAGCTTGTTTATGATTTTACCGACGAGACGTCCGAAGT
ATCTACTACCGACAAAATTGCGGATATCACTATCATCATCCCGTACATCG
GTCCGGCTCTGAACATTGGCAACATGCTGTACAAAGACGACTTCGTTGG
CGCACTGATCTTCTCCGGTGCGGTGATCCTGCTGGAGTTCATCCCGGA
AATCGCCATCCCGGTACTGGGCACCTTTGCTCTGGTTTCTTACATTGCA
AACAAGGTTCTGACTGTACAAACCATCGACAACGCGCTGAGCAAACGTA
ACGAAAAATGGGATGAAGTTTACAAATATATCGTGACCAACTGGCTGGC
TAAGGTTAATACTCAGATCGACCTCATCCGCAAAAAAATGAAAGAAGCA
CTGGAAAACCAGGCGGAAGCTACCAAGGCAATCATTAACTACCAGTACA
ACCAGTACACCGAGGAAGAAAAAAACAACATCAACTTCAACATCGACGA

TCTGTCCTCTAAACTGAACGAATCCATCAACAAAGCTATGATCAACATCA
ACAAGTTCCTGAACCAGTGCTCTGTAAGCTATCTGATGAACTCCATGAT
CCCGTACGGTGTTAAACGTCTGGAGGACTTCGATGCGTCTCTGAAAGAC
GCCCTGCTGAAATACATTTACGACAACCGTGGCACTCTGATCGGTCAGG
TTGATCGTCTGAAGGACAAAGTGAACAATACCTTATCGACCGACATCCC
TTTTCAGCTCAGTAAATATGTCGATAACCAACGCCTTTTGTCCACTtaataa
gctt

2. Sequência de DNA de LH_N/B

GGATCCATGCCGGTTACCATCAACAACTTCAACTACAACGACCCGATCG
ACAACAACAACATCATTATGATGGAACCGCCGTTCGCACGTGGTACCGG
ACGTTACTACAAGGCTTTTAAGATCACCGACCGTATCTGGATCATCCCG
GAACGTTACACCTTCGGTTACAAACCTGAGGACTTCAACAAGAGTAGCG
GGATTTTCAATCGTGACGTCTGCGAGTACTATGATCCAGATTATCTGAAT
ACCAACGATAAGAAGAACATATTCCTTCAGACTATGATTAAACTCTTCAA
CCGTATCAAAAGCAAACCGCTCGGTGAAAAACTCCTCGAAATGATTATC
AACGGTATCCCGTACCTCGGTGACCGTCGTGTCCCGCTTGAAGAGTTC
AACACCAACATCGCAAGCGTCACCGTCAACAAACTCATCAGCAACCCAG
GTGAAGTCGAACGTAAAAAAGGTATCTTCGCAAACCTCATCATCTTCGG
TCCGGGTCCGGTCCTCAACGAAAACGAAACCATCGACATCGGTATCCA
GAACCACTTCGCAAGCCGTGAAGGTTTCGGTGGTATCATGCAGATGAAA
TTCTGCCCGGAATACGTCAGTGTCTTCAACAACGTCCAGGAAAACAAAG
GTGCAAGCATCTTCAACCGTCGTGGTTACTTCAGCGACCCGGCACTCAT
CCTCATGCATGAACTCATCCACGTCCTCCACGGTCTCTACGGTATCAAA
GTTGACGACCTCCCGATCGTCCCGAACGAGAAGAAATTCTTCATGCAGA
GCACCGACGCAATCCAGGCTGAGGAACTCTACACCTTCGGTGGCCAAG
ACCCAAGTATCATAACCCCGTCCACCGACAAAAGCATCTACGACAAAGT
CCTCCAGAACTTCAGGGGTATCGTGGACAGACTCAACAAAGTCCTCGTC
TGCATCAGCGACCCGAACATCAATATCAACATATACAAGAACAAGTTCAA
AGACAAGTACAAATTCGTCGAGGACAGCGAAGGCAAATACAGCATCGA
CGTAGAAAGTTTCGACAAGCTCTACAAAAGCCTCATGTTCGGTTTCACC
GAAACCAACATCGCCGAGAACTACAAGATCAAGACAAGGGCAAGTTACT
TCAGCGACAGCCTCCCGCCTGTCAAAATCAAGAACCTCTTAGACAACGA

GATTTACACAATTGAAGAGGGCTTCAACATCAGTGACAAAGACATGGAG
AAGGAATACAGAGGTCAGAACAAGGCTATCAACAAACAGGCATACGAG
GAGATCAGCAAAGAACACCTCGCAGTCTACAAGATCCAGATGTGCGTC
GACGGCATCATTACCTCCAAAACTAAATCTGACGATGACGATAAAAACA
AAGCGCTGAACCTGCAGTGCATCGACGTTGACAACGAAGACCTGTTCTT
CATCGCTGACAAAAACAGCTTCAGTGACGACCTGAGCAAAAACGAACGT
ATCGAATACAACACCCAGAGCAACTACATCGAAAACGACTTCCCGATCA
ACGAACTGATCCTGGACACCGACCTGATAAGTAAAATCGAACTGCCGAG
CGAAAACACCGAAAGTCTGACCGACTTCAACGTTGACGTTCCGGTTTAC
GAAAAACAGCCGGCTATCAAGAAAATCTTCACCGACGAAAACACCATCT
TCCAGTACCTGTACAGCCAGACCTTCCCGCTGGACATCCGTGACATCAG
TCTGACCAGCAGTTTCGACGACGCTCTGCTGTTCAGCAACAAAGTTTAC
AGTTTCTTCAGCATGGACTACATCAAAACCGCTAACAAAGTTGTTGAAGC
AGGGCTGTTCGCTGGTTGGGTTAAACAGATCGTTAACGACTTCGTTATC
GAAGCTAACAAAAGCAACACTATGGACAAAATCGCTGACATCAGTCTGA
TCGTTCCGTACATCGGTCTGGCTCTGAACGTTGGTAACGAAACCGCTAA
AGGTAACTTTGAAAACGCTTTCGAGATCGCTGGTGCAAGCATCCTGCTG
GAGTTCATCCCGGAACTGCTGATCCCGGTTGTTGGTGCTTTCCTGCTGG
AAAGTTACATCGACAACAAAAACAAGATCATCAAAACCATCGACAACGCT
CTGACCAAACGTAACGAAAAATGGAGTGATATGTACGGTCTGATCGTTG
CTCAGTGGCTGAGCACCGTCAACACCCAGTTCTACACCATCAAAGAAGG
TATGTACAAAGCTCTGAACTACCAGGCTCAGGCTCTGGAAGAGATCATC
AAATACCGTTACAACATCTACAGTGAGAAGGAAAAGAGTAACATCAACAT
CGACTTCAACGACATCAACAGCAAACTGAACGAAGGTATCAACCAGGCT
ATCGACAACATCAACAACTTCATCAACGGTTGCAGTGTTAGCTACCTGAT
GAAGAAGATGATCCCGCTGGCTGTTGAAAAACTGCTGGACTTCGACAAC
ACCCTGAAAAAGAACCTGCTGAACTACATCGACGAAAACAAGCTGTACC
TGATCGGTAGTGCTGAATACGAAAAAAGTAAAGTGAACAAATACCTGAA
GACCATCATGCCGTTCGACCTGAGTATCTACACCAACGACACCATCCTG
ATCGAAATGTTCAACAAATACAACTCTtaataagctt

3. Sequência de DNA de LH_N/C

ggatccATGCCGATCACCATCAACAACTTCAACTACAGCGATCCGGTGGAT

AACAAAAACATCCTGTACCTGGATACCCATCTGAATACCCTGGCGAACG
AACCGGAAAAAGCGTTTCGTATCACCGGCAACATTTGGGTTATTCCGGA
TCGTTTTAGCCGTAACAGCAACCCGAATCTGAATAAACCGCCGCGTGTT
ACCAGCCCGAAAAGCGGTTATTACGATCCGAACTATCTGAGCACCGATA
GCGATAAAGATACCTTCCTGAAAGAAATCATCAAACTGTTCAAACGCATC
AACAGCCGTGAAATTGGCGAAGAACTGATCTATCGCCTGAGCACCGATA
TTCCGTTTCCGGGCAACAACAACACCCCGATCAACACCTTTGATTTCGA
TGTGGATTTCAACAGCGTTGATGTTAAAACCCGCCAGGGTAACAATTGG
GTGAAAACCGGCAGCATTAACCCGAGCGTGATTATTACCGGTCCGCGC
GAAAACATTATTGATCCGGAAACCAGCACCTTTAAACTGACCAACAACA
CCTTTGCGGCGCAGGAAGGTTTTGGCGCGCTGAGCATTATTAGCATTAG
CCCGCGCTTTATGCTGACCTATAGCAACGCGACCAACGATGTTGGTGAA
GGCCGTTTCAGCAAAAGCGAATTTTGCATGGACCCGATCCTGATCCTGA
TGCATGAACTGAACCATGCGATGCATAACCTGTATGGCATCGCGATTCC
GAACGATCAGACCATTAGCAGCGTGACCAGCAACATCTTTTACAGCCAG
TACAACGTGAAACTGGAATATGCGGAAATCTATGCGTTTGGCGGTCCGA
CCATTGATCTGATTCCGAAAAGCGCGCGCAAATACTTCGAAGAAAAAGC
GCTGGATTACTATCGCAGCATTGCGAAACGTCTGAACAGCATTACCACC
GCGAATCCGAGCAGCTTCAACAAATATATCGGCGAATATAAACAGAAAC
TGATCCGCAAATATCGCTTTGTGGTGGAAAGCAGCGGCGAAGTTACCGT
TAACCGCAATAAATTCGTGGAACTGTACAACGAACTGACCCAGATCTTC
ACCGAATTTAACTATGCGAAAATCTATAACGTGCAGAACCGTAAAATCTA
CCTGAGCAACGTGTATACCCCGGTGACCGCGAATATTCTGGATGATAAC
GTGTACGATATCCAGAACGGCTTTAACATCCCGAAAAGCAACCTGAACG
TTCTGTTTATGGGCCAGAACCTGAGCCGTAATCCGGCGCTGCGTAAAGT
GAACCCGGAAAACATGCTGTACCTGTTCACCAAATTTTGCGTCGACGCG
ATTGATGGTCGTAGCCTGTACAACAAAACCCTGCAGTGTCGTGAACTGC
TGGTGAAAAACACCGATCTGCCGTTTATTGGCGATATCAGCGATGTGAA
AACCGATATCTTCCTGCGCAAAGATATCAACGAAGAAACCGAAGTGATC
TACTACCCGGATAACGTGAGCGTTGATCAGGTGATCCTGAGCAAAAACA
CCAGCGAACATGGTCAGCTGGATCTGCTGTATCCGAGCATTGATAGCG
AAAGCGAAATTCTGCCGGGCGAAAACCAGGTGTTTTACGATAACCGTAC

CCAGAACGTGGATTACCTGAACAGCTATTACTACCTGGAAAGCCAGAAA
CTGAGCGATAACGTGGAAGATTTTACCTTTACCCGCAGCATTGAAGAAG
CGCTGGATAACAGCGCGAAAGTTTACACCTATTTTCCGACCCTGGCGAA
CAAAGTTAATGCGGGTGTTCAGGGCGGTCTGTTTCTGATGTGGGCGAA
CGATGTGGTGGAAGATTTCACCACCAACATCCTGCGTAAAGATACCCTG
GATAAAATCAGCGATGTTAGCGCGATTATTCCGTATATTGGTCCGGCGC
TGAACATTAGCAATAGCGTGCGTCGTGGCAATTTTACCGAAGCGTTTGC
GGTTACCGGTGTGACCATTCTGCTGGAAGCGTTTCCGGAATTTACCATT
CCGGCGCTGGGTGCGTTTGTGATCTATAGCAAAGTGCAGGAACGCAAC
GAAATCATCAAAACCATCGATAACTGCCTGGAACAGCGTATTAAACGCT
GGAAAGATAGCTATGAATGGATGATGGGCACCTGGCTGAGCCGTATTAT
CACCCAGTTCAACAACATCAGCTACCAGATGTACGATAGCCTGAACTAT
CAGGCGGGTGCGATTAAAGCGAAAATCGATCTGGAATACAAAAAATACA
GCGGCAGCGATAAAGAAAACATCAAAAGCCAGGTTGAAAACCTGAAAAA
CAGCCTGGATGTGAAAATTAGCGAAGCGATGAATAACATCAACAAATTC
ATCCGCGAATGCAGCGTGACCTACCTGTTCAAAAACATGCTGCCGAAAG
TGATCGATGAACTGAACGAATTTGATCGCAACACCAAAGCGAAACTGAT
CAACCTGATCGATAGCCACAACATTATTCTGGTGGGCGAAGTGGATAAA
CTGAAAGCGAAAGTTAACAACAGCTTCCAGAACACCATCCCGTTTAACA
TCTTCAGCTATACCAACAACAGCCTGCTGAAAGATATCATCAACGAATAC
TTCAATtaataagctt

4. Sequência de DNA de LH_N/D

ggatccATGACGTGGCCAGTTAAGGATTTCAACTACTCAGATCCTGTAAAT
GACAACGATATTCTGTACCTTCGCATTCCACAAAATAAACTGATCACCAC
ACCAGTCAAAGCATTCATGATTACTCAAAACATTTGGGTCATTCCAGAAC
GCTTTTCTAGTGACACAAATCCGAGTTTATCTAAACCTCCGCGTCCGAC
GTCCAAATATCAGAGCTATTACGATCCCTCATATCTCAGTACGGACGAA
CAAAAAGATACTTTCCTTAAAGGTATCATTAAACTGTTTAAGCGTATTAAT
GAGCGCGATATCGGGAAAAAGTTGATTAATTATCTTGTTGTGGGTTCCC
CGTTCATGGGCGATAGCTCTACCCCCGAAGACACTTTTGATTTTACCCG
TCATACGACAAACATCGCGGTAGAGAAGTTTGAGAACGGATCGTGGAAA
GTCACAAACATCATTACACCTAGCGTCTTAATTTTTGGTCCGCTGCCAAA

CATCTTAGATTATACAGCCAGCCTGACTTTGCAGGGGCAACAGTCGAAT
CCGAGTTTCGAAGGTTTTGGTACCCTGAGCATTCTGAAAGTTGCCCCGG
AATTTCTGCTCACTTTTTCAGATGTCACCAGCAACCAGAGCTCAGCAGTA
TTAGGAAAGTCAATTTTTTGCATGGACCCGGTTATTGCACTGATGCACG
AACTGACGCACTCTCTGCATCAACTGTATGGGATCAACATCCCCAGTGA
CAAACGTATTCGTCCCCAGGTGTCTGAAGGATTTTTCTCACAGGATGGG
CCGAACGTCCAGTTCGAAGAGTTGTATACTTTCGGAGGCCTGGACGTA
GAGATCATTCCCCAGATTGAGCGCAGTCAGCTGCGTGAGAAGGCATTG
GGCCATTATAAGGATATTGCAAAACGCCTGAATAACATTAACAAAACGAT
TCCATCTTCGTGGATCTCGAATATTGATAAATATAAGAAAATTTTTAGCG
AGAAATATAATTTTGATAAAGATAATACAGGTAACTTTGTGGTTAACATTG
ACAAATTCAACTCCCTTTACAGTGATTTGACGAATGTAATGAGCGAAGTT
GTGTATAGTTCCCAATACAACGTTAAGAATCGTACCCATTACTTCTCTCG
TCACTACCTGCCGGTTTTCGCGAACATCCTTGACGATAATATTTACACTA
TTCGTGACGGCTTTAACTTGACCAACAAGGGCTTCAATATTGAAAATTCA
GGCCAGAACATTGAACGCAACCCGGCCTTGCAGAAACTGTCGAGTGAA
TCCGTGGTTGACCTGTTTACCAAAGTCTGCGTCGACAAAAGCGAAGAGA
AGCTGTACGATGACGATGACAAAGATCGTTGGGGATCGTCCCTGCAGT
GTATTAAAGTGAAAAACAATCGGCTGCCTTATGTAGCAGATAAAGATAG
CATTAGTCAGGAGATTTTCGAAAATAAAATTATCACTGACGAAACCAATG
TTCAGAATTATTCAGATAAATTTTCACTGGACGAAAGCATCTTAGATGGC
CAAGTTCCGATTAACCCGGAAATTGTTGATCCGTTACTGCCGAACGTGA
ATATGGAACCGTTAAACCTCCCTGGCGAAGAGATCGTATTTTATGATGA
CATTACGAAATATGTGGACTACCTTAATTCTTATTACTATTTGGAAAGCC
AGAAACTGTCCAATAACGTGGAAAACATTACTCTGACCACAAGCGTGGA
AGAGGCTTTAGGCTACTCAAATAAGATTTATACCTTCCTCCCGTCGCTG
GCGGAAAAAGTAAATAAAGGTGTGCAGGCTGGTCTGTTCCTCAACTGG
GCGAATGAAGTTGTCGAAGACTTTACCACGAATATTATGAAAAAGGATA
CCCTGGATAAAATCTCCGACGTCTCGGTTATTATCCCATATATTGGCCCT
GCGTTAAATATCGGTAATAGTGCGCTGCGGGGGAATTTTAACCAGGCCT
TTGCTACCGCGGGCGTCGCGTTCCTCCTGGAGGGCTTTCCTGAATTTAC
TATCCCGGCGCTCGGTGTTTTTACATTTTACTCTTCCATCCAGGAGCGT

GAGAAAATTATCAAAACCATCGAAAACTGCCTGGAGCAGCGGGTGAAAC
GCTGGAAAGATTCTTATCAATGGATGGTGTCAAACTGGTTATCTCGCAT
CACGACCCAATTCAACCATATTAATTACCAGATGTATGATAGTCTGTCGT
ACCAAGCTGACGCCATTAAAGCCAAAATTGATCTGGAATATAAAAAGTAC
TCTGGTAGCGATAAGGAGAACATCAAAAGCCAGGTGGAGAACCTTAAGA
ATAGTCTGGATGTGAAAATCTCTGAAGCTATGAATAACATTAACAAATTC
ATTCGTGAATGTTCGGTGACGTACCTGTTCAAGAATATGCTGCCAAAAG
TTATTGATGAACTGAATAAATTTGATCTGCGTACCAAAACCGAACTTATC
AACCTCATCGACTCCCACAACATTATCCTTGTGGGCGAAGTGGATCGTC
TGAAGGCCAAAGTAAACGAGAGCTTTGAAAATACGATGCCGTTTAATATT
TTTTCATATACCAATAACTCCTTGCTGAAAGATATCATCAATGAATATTTC
AATtaataagctt

5. Sequência de DNA do ligante CP-EN-GS15-SST28 humano

CATATGGGATCCGGTTTAAACGTCGACGGCATCATTACCTCCAAAACTA
AATCTGACGATGACGATAAAAGCGCCAATTCAAATCCTGCAATGGCGCC
ACGCGAACGCAAAGCTGGTTGCAAAAACTTCTTCTGGAAAACCTTCACC
TCTTGCGCGCTAGCGGGCGGTGGCGGTAGCGGCGGTGGCGGTAGCG
GCGGTGGCGGTAGCGCACTAGTGCTGCAGCTAGAATAATGAAAGCTT

6. Sequência de DNA do ligante CT-GS20-CST28 humano

GGATCCGTCGACCTGCAGGGTCTAGAAGGCGGTGGCGGTAGCGGCGG
TGGCGGTAGCGGCGGTGGCGGTAGCGGCGGTGGCGGTAGCGCACTA
GTGCAGGAAAGACCTCCATTACAACAACCTCCACATCGCGATAAGAAAC
CATGTAAGAATTTCTTTTGGAAAACATTTAGCAGTTGCAAATGATAAAAG
CTT

7. Sequência de proteína da fusão CP-CST14-GS20-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK

YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKPCKNFFWKTFSSCKALAGGGGSG
GGGSGGGGSALVLQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENKIITDETNVQNYS
DKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKYVDYL
NSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAG
LFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQ
AFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKD
SYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDK
ENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFD
LRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFSYTNNSLLKDIIN
EYFN

8. Sequência de proteína da fusão CP-CST14-GS30-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKPCKNFFWKTFSSCKALAGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENK
IITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVF
YDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLA
EKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIG
NSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENC
LEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDL
EYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNML
PKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFS
YTNNSLLKDIINEYFN

9. Sequência de proteína da fusão CP-CST28-GS20-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKQERPPLQQPPHRDKKPCKNFFWK
TFSSCKALAGGGGSGGGGSGGGGSALVLQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEI
FENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPG
EEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFL
PSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPA
LNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKT
IENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIK
AKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLF
KNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPF
NIFSYTNNSLLKDIINEYFN

10. Sequência de proteína da fusão CP-CST28-GS30-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKQERPPLQQPPHRDKKPCKNFFWK
TFSSCKALAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSALVLQCIKVKNNRL
PYVADKDSISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLL
PNVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVE
EALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDK

ISDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFT
FYSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQM
YDSLSYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNIN
KFIRECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAK
VNESFENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

11. Sequência de proteína da fusão CP-SST14-GS20-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKAGCKNFFWKTFTSCALAGGGGSG
GGGSGGGGSALVLQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENKIITDETNVQNYS
DKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKYVDYL
NSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAG
LFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQ
AFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKD
SYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDK
ENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFD
LRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFSYTNNSLLKDIIN
EYFN

12. Sequência de proteína da fusão CP-SST14-GS30-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR

THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKAGCKNFFWKTFTSCALAGGGGSG
GGGSGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENK
IITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVF
YDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLA
EKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIG
NSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENC
LEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDL
EYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNML
PKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFS
YTNNSLLKDIINEYFN

13. Sequência de proteína da fusão CP-SST28-GS20-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKSANSNPAMAPRERKAGCKNFFWK
TFTSCALAGGGGSGGGGSGGGGSALVLQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

14. Sequência de proteína da fusão CP-SST28-GS30-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT

NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKSANSNPAMAPRERKAGCKNFFWK
TFTSCALAGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLP
YVADKDSISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLP
NVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEE
ALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKI
SDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTF
YSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMY
DSLSYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINK
FIRECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKV
NESFENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

15. Sequência de proteína da fusão CT-CST14-GS20-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY

QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVPCKNF
FWKTFSSCK

16. Sequência de proteína da fusão CT-CST14-GS30-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSALVPCKNFFWKTFSSCK

17. Sequência de DNA da fusão CT-CST28-GS20-LHD

GGATCCATGACGTGGCCAGTTAAGGATTTCAACTACTCAGATCCTGTAA
ATGACAACGATATTCTGTACCTTCGCATTCCACAAAATAAACTGATCACC
ACACCAGTCAAAGCATTCATGATTACTCAAAACATTTGGGTCATTCCAGA
ACGCTTTTCTAGTGACACAAATCCGAGTTTATCTAAACCTCCGCGTCCG
ACGTCCAAATATCAGAGCTATTACGATCCCTCATATCTCAGTACGGACG
AACAAAAAGATACTTTCCTTAAAGGTATCATTAAACTGTTTAAGCGTATTA
ATGAGCGCGATATCGGGAAAAAGTTGATTAATTATCTTGTTGTGGGTTC
CCCGTTCATGGGCGATAGCTCTACCCCCGAAGACACTTTTGATTTTACC

CGTCATACGACAAACATCGCGGTAGAGAAGTTTGAGAACGGATCGTGG
AAAGTCACAAACATCATTACACCTAGCGTCTTAATTTTTGGTCCGCTGCC
AAACATCTTAGATTATACAGCCAGCCTGACTTTGCAGGGGCAACAGTCG
AATCCGAGTTTCGAAGGTTTTGGTACCCTGAGCATTCTGAAAGTTGCCC
CGGAATTTCTGCTCACTTTTTCAGATGTCACCAGCAACCAGAGCTCAGC
AGTATTAGGAAAGTCAATTTTTTGCATGGACCCGGTTATTGCACTGATGC
ACGAACTGACGCACTCTCTGCATCAACTGTATGGGATCAACATCCCCAG
TGACAAACGTATTCGTCCCCAGGTGTCTGAAGGATTTTTCTCACAGGAT
GGGCCGAACGTCCAGTTCGAAGAGTTGTATACTTTCGGAGGCCTGGAC
GTAGAGATCATTCCCCAGATTGAGCGCAGTCAGCTGCGTGAGAAGGCA
TTGGGCCATTATAAGGATATTGCAAAACGCCTGAATAACATTAACAAAAC
GATTCCATCTTCGTGGATCTCGAATATTGATAAATATAAGAAAATTTTTAG
CGAGAAATATAATTTTGATAAAGATAATACAGGTAACTTTGTGGTTAACA
TTGACAAATTCAACTCCCTTTACAGTGATTTGACGAATGTAATGAGCGAA
GTTGTGTATAGTTCCCAATACAACGTTAAGAATCGTACCCATTACTTCTC
TCGTCACTACCTGCCGGTTTTCGCGAACATCCTTGACGATAATATTTACA
CTATTCGTGACGGCTTTAACTTGACCAACAAGGGCTTCAATATTGAAAAT
TCAGGCCAGAACATTGAACGCAACCCGGCCTTGCAGAAACTGTCGAGT
GAATCCGTGGTTGACCTGTTTACCAAAGTCTGCGTCGACAAAAGCGAAG
AGAAGCTGTACGATGACGATGACAAAGATCGTTGGGGATCGTCCCTGC
AGTGTATTAAAGTGAAAAACAATCGGCTGCCTTATGTAGCAGATAAAGAT
AGCATTAGTCAGGAGATTTTCGAAAATAAAATTATCACTGACGAAACCAA
TGTTCAGAATTATTCAGATAAATTTTCACTGGACGAAAGCATCTTAGATG
GCCAAGTTCCGATTAACCCGGAAATTGTTGATCCGTTACTGCCGAACGT
GAATATGGAACCGTTAAACCTCCCTGGCGAAGAGATCGTATTTTATGAT
GACATTACGAAATATGTGGACTACCTTAATTCTTATTACTATTTGGAAAG
CCAGAAACTGTCCAATAACGTGGAAAACATTACTCTGACCACAAGCGTG
GAAGAGGCTTTAGGCTACTCAAATAAGATTTATACCTTCCTCCCGTCGCT
GGCGGAAAAAGTAAATAAAGGTGTGCAGGCTGGTCTGTTCCTCAACTG
GGCGAATGAAGTTGTCGAAGACTTTACCACGAATATTATGAAAAAGGAT
ACCCTGGATAAAATCTCCGACGTCTCGGTTATTATCCCATATATTGGCCC
TGCGTTAAATATCGGTAATAGTGCGCTGCGGGGGAATTTTAACCAGGCC

TTTGCTACCGCGGGCGTCGCGTTCCTCCTGGAGGGCTTTCCTGAATTTA
CTATCCCGGCGCTCGGTGTTTTTACATTTTACTCTTCCATCCAGGAGCG
TGAGAAAATTATCAAAACCATCGAAAACTGCCTGGAGCAGCGGGTGAAA
CGCTGGAAAGATTCTTATCAATGGATGGTGTCAAACTGGTTATCTCGCA
TCACGACCCAATTCAACCATATTAATTACCAGATGTATGATAGTCTGTCG
TACCAAGCTGACGCCATTAAAGCCAAAATTGATCTGGAATATAAAAAGTA
CTCTGGTAGCGATAAGGAGAACATCAAAAGCCAGGTGGAGAACCTTAA
GAATAGTCTGGATGTGAAAATCTCTGAAGCTATGAATAACATTAACAAAT
TCATTCGTGAATGTTCGGTGACGTACCTGTTCAAGAATATGCTGCCAAA
AGTTATTGATGAACTGAATAAATTTGATCTGCGTACCAAAACCGAACTTA
TCAACCTCATCGACTCCCACAACATTATCCTTGTGGGCGAAGTGGATCG
TCTGAAGGCCAAAGTAAACGAGAGCTTTGAAAATACGATGCCGTTTAAT
ATTTTTTCATATACCAATAACTCCTTGCTGAAAGATATCATCAATGAATAT
TTCAATCTAGAAGGCGGTGGCGGTAGCGGCGGTGGCGGTAGCGGCGG
TGGCGGTAGCGCACTAGTGCAGGAAAGACCTCCATTACAACAACCTCC
ACATCGCGATAAGAAACCATGTAAGAATTTCTTTTGGAAAACATTTAGCA
GTTGCAAAtaataagctt

18. Sequência de proteína da fusão CT-CST28-GS20-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY

QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVQERPP
LQQPPHRDKKPCKNFFWKTFSSCK

19. Sequência de proteína da fusão CT-CST28-GS30-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSALVQERPPLQQPPHRDKKPCKNFFWKTFSSCK

20. Sequência de proteína da fusão CT-SST14-GS15-L(#Fxa)HD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSIDGRNVQF
EELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR

THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYIDGRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKDSISQ
EIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLP
GEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYT
FLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIG
PALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKII
KTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADA
IKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYL
FKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMP
FNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVAGCKNFFWKT
FTSC

21. Sequência de proteína da fusão CT-SST14-GS30-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSALVAGCKNFFWKTFTSC

22. Sequência de proteína da fusão CT-SST28-GS20-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT

NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVSANSN
PAMAPRERKAGCKNFFWKTFTSC

23. Sequência de proteína da fusão CT-SST28-GS30-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY

QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGG
GGSALVSANSNPAMAPRERKAGCKNFFWKTFTSC

24. Sequência de proteína da fusão CT-SST14-GS35-LHC

PITINNFNYSDPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSN
PNLNKPPRVTSPKSGYYDPNYLSTDSDKDTFLKEIIKLFKRINSREIGEELIYR
LSTDIPFPGNNNTPINTFDFDVDFNSVDVKTRQGNNWVKTGSINPSVIITGP
RENIIDPETSTFKLTNNTFAAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRF
SKSEFCMDPILILMHELNHAMHNLYGIAIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEY
AEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYYRSIAKRLNSITTANPSSFNKYIGE
YKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNYAKIYNVQNRKI
YLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLSRNPALRKVNP
ENMLYLFTKFCVDAIDGRSLYNKTLQCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTDIFLR
KDINEETEVIYYPDNVSVDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQV
FYDNRTQNVDYLNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPT
LANKVNAGVQGGLFLMWANDVVEDFTTNILRKDTLDKISDVSAIIPYIGPALN
ISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAFPEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIIKTIDN
CLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNNISYQMYDSLNYQAGAIKAKID
LEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNML
PKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNIILVGEVDKLKAKVNNSFQNTIPFNIFSY
TNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSG
GGGSALVAGCKNFFWKTFTSC

25. Sequência de DNA da fusão CP-SST28-GS15-LHA

ggatccATGGAGTTCGTTAACAAACAGTTCAACTATAAAGACCCAGTTAAC
GGTGTTGACATTGCTTACATCAAAATCCCGAACGCTGGCCAGATGCAGC
CGGTAAAGGCATTCAAAATCCACAACAAAATCTGGGTTATCCCGGAACG
TGATACCTTTACTAACCCGGAAGAAGGTGACCTGAACCCGCCACCGGA
AGCGAAACAGGTGCCGGTATCTTACTATGACTCCACCTACCTGTCTACC
GATAACGAAAAGGACAACTACCTGAAAGGTGTTACTAAACTGTTCGAGC
GTATTTACTCCACCGACCTGGGCCGTATGCTGCTGACTAGCATCGTTCG
CGGTATCCCGTTCTGGGGCGGTTCTACCATCGATACCGAACTGAAAGTA

ATCGACACTAACTGCATCAACGTTATTCAGCCGGACGGTTCCTATCGTT
CCGAAGAACTGAACCTGGTGATCATCGGCCCGTCTGCTGATATCATCCA
GTTCGAGTGTCTGAGCTTTGGTCACGAAGTTCTGAACCTCACCCGTAAC
GGCTACGGTTCCACTCAGTACATCCGTTTCTCTCCGGACTTCACCTTCG
GTTTTGAAGAATCCCTGGAAGTAGACACGAACCCACTGCTGGGCGCTG
GTAAATTCGCAACTGATCCTGCGGTTACCCTGGCTCACGAACTGATTCA
TGCAGGCCACCGCCTGTACGGTATCGCCATCAATCCGAACCGTGTCTT
CAAAGTTAACACCAACGCGTATTACGAGATGTCCGGTCTGGAAGTTAGC
TTCGAAGAACTGCGTACTTTTGGCGGTCACGACGCTAAATTCATCGACT
CTCTGCAAGAAAACGAGTTCCGTCTGTACTACTATAACAAGTTCAAAGAT
ATCGCATCCACCCTGAACAAAGCGAAATCCATCGTGGGTACCACTGCTT
CTCTCCAGTACATGAAGAACGTTTTTAAAGAAAAATACCTGCTCAGCGAA
GACACCTCCGGCAAATTCTCTGTAGACAAGTTGAAATTCGATAAACTTTA
CAAAATGCTGACTGAAATTTACACCGAAGACAACTTCGTTAAGTTCTTTA
AAGTTCTGAACCGCAAAACCTATCTGAACTTCGACAAGGCAGTATTCAA
AATCAACATCGTGCCGAAAGTTAACTACACTATCTACGATGGTTTCAACC
TGCGTAACACCAACCTGGCTGCTAATTTTAACGGCCAGAACACGGAAAT
CAACAACATGAACTTCACAAAACTGAAAAACTTCACTGGTCTGTTCGAGT
TTTACAAGCTGCTGTGCGTCGACGGCATCATTACCTCCAAAACTAAATCT
GACGATGACGATAAAAGCGCCAATTCAAATCCTGCAATGGCGCCACGC
GAACGCAAAGCTGGATGCAAAAACTTCTTTTGGAAGACATTTACTAGTTG
TGCGCTAGCGGGCGGTGGCGGTAGCGGCGGTGGCGGTAGCGGCGGT
GGCGGTAGCGCACTAGTGCTGCAGTGTATCAAGGTTAACAACTGGGAT
TTATTCTTCAGCCCGAGTGAAGACAACTTCACCAACGACCTGAACAAAG
GTGAAGAAATCACCTCAGATACTAACATCGAAGCAGCCGAAGAAAACAT
CTCGCTGGACCTGATCCAGCAGTACTACCTGACCTTTAATTTCGACAAC
GAGCCGGAAAACATTTCTATCGAAAACCTGAGCTCTGATATCATCGGCC
AGCTGGAACTGATGCCGAACATCGAACGTTTCCCAAACGGTAAAAAGTA
CGAGCTGGACAAATATACCATGTTCCACTACCTGCGCGCGCAGGAATTT
GAACACGGCAAATCCCGTATCGCACTGACTAACTCCGTTAACGAAGCTC
TGCTCAACCCGTCCCGTGTATACACCTTCTTCTCTAGCGACTACGTGAA
AAAGGTCAACAAAGCGACTGAAGCTGCAATGTTCTTGGGTTGGGTTGAA

CAGCTTGTTTATGATTTTACCGACGAGACGTCCGAAGTATCTACTACCG
ACAAAATTGCGGATATCACTATCATCATCCCGTACATCGGTCCGGCTCT
GAACATTGGCAACATGCTGTACAAAGACGACTTCGTTGGCGCACTGATC
TTCTCCGGTGCGGTGATCCTGCTGGAGTTCATCCCGGAAATCGCCATC
CCGGTACTGGGCACCTTTGCTCTGGTTTCTTACATTGCAAACAAGGTTC
TGACTGTACAAACCATCGACAACGCGCTGAGCAAACGTAACGAAAAATG
GGATGAAGTTTACAAATATATCGTGACCAACTGGCTGGCTAAGGTTAAT
ACTCAGATCGACCTCATCCGCAAAAAAATGAAAGAAGCACTGGAAAACC
AGGCGGAAGCTACCAAGGCAATCATTAACTACCAGTACAACCAGTACAC
CGAGGAAGAAAAAAACAACATCAACTTCAACATCGACGATCTGTCCTCT
AAACTGAACGAATCCATCAACAAAGCTATGATCAACATCAACAAGTTCCT
GAACCAGTGCTCTGTAAGCTATCTGATGAACTCCATGATCCCGTACGGT
GTTAAACGTCTGGAGGACTTCGATGCGTCTCTGAAAGACGCCCTGCTGA
AATACATTTACGACAACCGTGGCACTCTGATCGGTCAGGTTGATCGTCT
GAAGGACAAAGTGAACAATACCTTATCGACCGACATCCCTTTTCAGCTC
AGTAAATATGTCGATAACCAACGCCTTTTGTCCACTtaataagctt

26. Sequência de proteína da fusão CP-SST28-GS15-LHA

EFVNKQFNYKDPVNGVDIAYIKIPNAGQMQPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTN
PEEGDLNPPPEAKQVPVSYYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLG
RMLLTSIVRGIPFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSA
DIIQFECLSFGHEVLNLTRNGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGA
GKFATDPAVTLAHELIHAGHRLYGIAINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEE
LRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTLNKAKSIVGTTASLQYMK
NVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLKFDKLYKMLTEIYTEDNFVKFFKVLNRKTY
LNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTEINNMNFTKLKNF
TGLFEFYKLLCVDGIITSKTKSDDDDKSANSNPAMAPRERKAGCKNFFWKT
FTSCALAGGGGSGGGGSGGGGSALVLQCIKVNNWDLFFSPSEDNFTNDL
NKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIGQLEL
MPNIERFPNGKKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSVNEALLNPSR
VYTFFSSDYVKKVNKATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVSTTDKIADITIIIP
YIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILLEFIPEIAIPVLGTFALVSYIANKVLT
VQTIDNALSKRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQIDLIRKKMKEALENQAEAT

KAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININKFLNQCSVSYLM
NSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDKVNNTLSTDIP
FQLSKYVDNQRLLST

27. Sequência de proteína da fusão CT-SST28-GS15-LHB

PVTINNFNYNDPIDNNNIIMMEPPFARGTGRYYKAFKITDRIWIIPERYTFGYK
PEDFNKSSGIFNRDVCEYYDPDYLNTNDKKNIFLQTMIKLFNRIKSKPLGEKL
LEMIINGIPYLGDRRVPLEEFNTNIASVTVNKLISNPGEVERKKGIFANLIIFGP
GPVLNENETIDIGIQNHFASREGFGGIMQMKFCPEYVSVFNNVQENKGASIF
NRRGYFSDPALILMHELIHVLHGLYGIKVDDLPIVPNEKKFFMQSTDAIQAEE
LYTFGGQDPSIITPSTDKSIYDKVLQNFRGIVDRLNKVLVCISDPNININIYKNK
FKDKYKFVEDSEGKYSIDVESFDKLYKSLMFGFTETNIAENYKIKTRASYFS
DSLPPVKIKNLLDNEIYTIEEGFNISDKDMEKEYRGQNKAINKQAYEEISKEH
LAVYKIQMCVDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQCIDVDNEDLFFIADKNSFSDD
LSKNERIEYNTQSNYIENDFPINELILDTDLISKIELPSENTESLTDFNVDVPVY
EKQPAIKKIFTDENTIFQYLYSQTFPLDIRDISLTSSFDDALLFSNKVYSFFSM
DYIKTANKVVEAGLFAGWVKQIVNDFVIEANKSNTMDKIADISLIVPYIGLALN
VGNETAKGNFENAFEIAGASILLEFIPELLIPVVGAFLLESYIDNKNKIIKTIDNA
LTKRNEKWSDMYGLIVAQWLSTVNTQFYTIKEGMYKALNYQAQALEEIIKYR
YNIYSEKEKSNINIDFNDINSKLNEGINQAIDNINNFINGCSVSYLMKKMIPLAV
EKLLDFDNTLKKNLLNYIDENKLYLIGSAEYEKSKVNKYLKTIMPFDLSIYTND
TILIEMFNKYNSLEGGGGSGGGGSGGGGSALDSANSNPAMAPRERKAGC
KNFFWKTFTSC

28. Sequência de proteína da fusão CT-CST14-GS20-LHC

PITINNFNYSDPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSN
PNLNKPPRVTSPKSGYYDPNYLSTDSDKDTFLKEIIKLFKRINSREIGEELIYR
LSTDIPFPGNNNTPINTFDFDVDFNSVDVKTRQGNNWVKTGSINPSVIITGP
RENIIDPETSTFKLTNNTFAAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRF
SKSEFCMDPILILMHELNHAMHNLYGIAIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEY
AEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYYRSIAKRLNSITTANPSSFNKYIGE
YKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNYAKIYNVQNRKI
YLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLSRNPALRKVNP
ENMLYLFTKFCVDAIDGRSLYNKTLQCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTDIFLR

KDINEETEVIYYPDNVSVDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQV
FYDNRTQNVDYLNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPT
LANKVNAGVQGGLFLMWANDVVEDFTTNILRKDTLDKISDVSAIIPYIGPALN
ISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAFPEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIIKTIDN
CLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNNISYQMYDSLNYQAGAIKAKID
LEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNML
PKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNIILVGEVDKLKAKVNNSFQNTIPFNIFSY
TNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSALVAGCKNFFWK
TFTSC

29. Sequência de proteína da fusão CT-CST17-GS25-LHC

PITINNFNYSDPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSN
PNLNKPPRVTSPKSGYYDPNYLSTDSDKDTFLKEIIKLFKRINSREIGEELIYR
LSTDIPFPGNNNTPINTFDFDVDFNSVDVKTRQGNNWVKTGSINPSVIITGP
RENIIDPETSTFKLTNNTFAAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRF
SKSEFCMDPILILMHELNHAMHNLYGIAIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEY
AEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYYRSIAKRLNSITTANPSSFNKYIGE
YKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNYAKIYNVQNRKI
YLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLSRNPALRKVNP
ENMLYLFTKFCVDAIDGRSLYNKTLQCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTDIFLR
KDINEETEVIYYPDNVSVDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQV
FYDNRTQNVDYLNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPT
LANKVNAGVQGGLFLMWANDVVEDFTTNILRKDTLDKISDVSAIIPYIGPALN
ISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAFPEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIIKTIDN
CLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNNISYQMYDSLNYQAGAIKAKID
LEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNML
PKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNIILVGEVDKLKAKVNNSFQNTIPFNIFSY
TNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSALVDRMP
CRNFFWKTFSSCK

30. Sequência de proteína da fusão CT-CST29-GS15-LHA

EFVNKQFNYKDPVNGVDIAYIKIPNAGQMQPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTN
PEEGDLNPPPEAKQVPVSYYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLG
RMLLTSIVRGIPFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSA

DIIQFECLSFGHEVLNLTRNGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGA
GKFATDPAVTLAHELIHAGHRLYGIAINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEE
LRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTLNKAKSIVGTTASLQYMK
NVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLKFDKLYKMLTEIYTEDNFVKFFKVLNRKTY
LNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTEINNMNFTKLKNF
TGLFEFYKLLCVDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQCIKVNNWDLFFSPSEDNF
TNDLNKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIG
QLELMPNIERFPNGKKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSVNEALLN
PSRVYTFFSSDYVKKVNKATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVSTTDKIADI
TIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILLEFIPEIAIPVLGTFALVSYIAN
KVLTVQTIDNALSKRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQIDLIRKKMKEALENQ
AEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININKFLNQCSV
SYLMNSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDKVNNTL
STDIPFQLSKYVDNQRLLSTLEGGGGSGGGGSGGGGSALVQEINTERVAL
OPQQSARRDRMPCRNFFWKTFSSCK

31. Sequência de proteína da fusão CT-CST29-GS30-LHB

PVTINNFNYNDPIDNNNIIMMEPPFARGTGRYYKAFKITDRIWIIPERYTFGYK
PEDFNKSSGIFNRDVCEYYDPDYLNTNDKKNIFLQTMIKLFNRIKSKPLGEKL
LEMIINGIPYLGDRRVPLEEFNTNIASVTVNKLISNPGEVERKKGIFANLIIFGP
GPVLNENETIDIGIQNHFASREGFGGIMQMKFCPEYVSVFNNVQENKGASIF
NRRGYFSDPALILMHELIHVLHGLYGIKVDDLPIVPNEKKFFMQSTDAIQAEE
LYTFGGQDPSIITPSTDKSIYDKVLQNFRGIVDRLNKVLVCISDPNININIYKNK
FKDKYKFVEDSEGKYSIDVESFDKLYKSLMFGFTETNIAENYKIKTRASYFS
DSLPPVKIKNLLDNEIYTIEEGFNISDKDMEKEYRGQNKAINKQAYEEISKEH
LAVYKIQMCVDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQCIDVDNEDLFFIADKNSFSDD
LSKNERIEYNTQSNYIENDFPINELILDTDLISKIELPSENTESLTDFNVDVPVY
EKQPAIKKIFTDENTIFQYLYSQTFPLDIRDISLTSSFDDALLFSNKVYSFFSM
DYIKTANKVVEAGLFAGWVKQIVNDFVIEANKSNTMDKIADISLIVPYIGLALN
VGNETAKGNFENAFEIAGASILLEFIPELLIPVVGAFLLESYIDNKNKIIKTIDNA
LTKRNEKWSDMYGLIVAQWLSTVNTQFYTIKEGMYKALNYQAQALEEIIKYR
YNIYSEKEKSNINIDFNDINSKLNEGINQAIDNINNFINGCSVSYLMKKMIPLAV
EKLLDFDNTLKKNLLNYIDENKLYLIGSAEYEKSKVNKYLKTIMPFDLSIYTND

TILIEMFNKYNSLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSALDQ
EINTERVALOPQQSARRDRMPCRNFFWKTFSSCK

32. Sequência de DNA de IgA-$H_N$tet

ggatccATGGAGTCCAATCAGCCGGAAAAAAATGGAACCGCGACTAAACC
CGAGAATTCGGGGAACACTACGTCGGAAAACGGCCAGACGGAACCTGA
GAAGAAACTGGAACTACGAAATGTGTCCGATATCGAGCTATACTCTCAA
ACCAATGGAACCTATAGGCAGCATGTTTCATTGGACGGAATCCCAGAAA
ATACGGATACATATTTCGTCAAAGTGAAGTCTAGCGCATTCAAGGATGTA
TATATCCCCGTTGCGAGTATTACAGAAGAGAAGCGGAACGGTCAAAGC
GTTTATAAGATTACAGCAAAGGCCGAAAAGTTACAACAGGAGTTAGAAA
ACAAATACGTTGACAATTTCACTTTTTATCTCGATAAAAAGGCTAAAGAG
GAAAACACGAACTTCACGTCATTTAGTAATCTGGTCAAAGCCATAAATCA
AAATCCATCTGGTACATACCATCTCGCGGCAAGTCTAAACGCGAATGAA
GTAGAACTTGGCCCGGACGAGCGTTCATACATTAAGGATACCTTTACTG
GCAGACTCATAGGGGAAAAAGACGGTAAGAACTATGCTATATACAATTT
GAAAAAGCCTTTATTTGAGAACCTGTCGGGCGCCACCGTCGAGAAATTG
TCCCTTAAAAACGTAGCTATAAGCGGAAAGAATGACATCGGTAGTCTTG
CAAACGAGGCTACTAACGGGACAAAGATTAAACAAGTGCACGTAGATGG
Gtgtgtcgacggcatcattacctccaaaactaaatctgacgatgacgataaaaacaaagcgctgaacct
gcagtgcattaaaataaagaatgaggatttgacattcatcgcagaaaaaaatagcttcagcgaagagcc
gttccaagatgagatagtaagctacaacaccaagaacaagccgcttaattttaattactcgttagataaaat
catagttgactacaaccttcaatcgaagatcacgttaccgaatgacagaacaactcctgtcacaaaagga
attccctatgcacctgagtataagtcaaatgccgcgtcaacaatagagattcataatatagatgacaacac
catctatcaatatctgtacgctcagaaaagtccaacaactcttcagcgtataacaatgaccaatagtgtcga
tgacgcattgataaattctaccaagatatactcttatttcccgagcgtcatctccaaagttaatcaaggtgctc
aaggcattctatttttgcaatgggtccgagacatcatagatgacttcactaatgagtcgtctcagaaaaccac
gattgataaaatatcagatgtttccaccatcgtcccctacatcggacctgcgcttaacattgtgaagcaggg
gtatgaggggaattttatcggagcgttagaaactacgggggttgtgctattacttgaatacataccagagata
acattgcccgttatagcggccctcagtatcgcagaatcaagtacacaaaaagaaaagataatcaaaaca
atcgacaacttcctagaaaagaggtacgaaaaatggatagaggtttataaactcgtgaaagcgaaatggt
taggcactgttaatacgcagttccaaaagagatcctatcaaatgtatagatcactggagtaccaggtggat
gccataaagaaaattatcgactatgaatataaaatatattcaggtccagataaggagcagatagctgatga

aataaacaatttaaaaaacaaacttgaagagaaggcgaataaggccatgatcaatatcaatatttttatgc
gagaatcttcacgatctttttggtaaatcagatgattaacgaagccaaaaagcagctgcttgagttcgacac
acagtccaaaaacatactaatgcaatatatcaaagcaaactcaaaattcattggaattactgagctgaag
aaactggaatccaaaataaataaagtattctctaccccgatcccgttctcttactctaaaaaccttgactgctg
ggtagataacgaagaagatattgacgttctagagtaataagctt

33. Sequência de proteína da fusão CT-GHRP-LHC

PITINNFNYSDPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSN
PNLNKPPRVTSPKSGYYDPNYLSTDSDKDTFLKEIIKLFKRINSREIGEELIYR
LSTDIPFPGNNNTPINTFDFDVDFNSVDVKTRQGNNWVKTGSINPSVIITGP
RENIIDPETSTFKLTNNTFAAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRF
SKSEFCMDPILILMHELNHAMHNLYGIAIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEY
AEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYYRSIAKRLNSITTANPSSFNKYIGE
YKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNYAKIYNVQNRKI
YLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLSRNPALRKVNP
ENMLYLFTKFCVDAIDGRSLYNKTLQCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTDIFLR
KDINEETEVIYYPDNVSVDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQV
FYDNRTQNVDYLNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPT
LANKVNAGVQGGLFLMWANDVVEDFTTNILRKDTLDKISDVSAIIPYIGPALN
ISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAFPEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIIKTIDN
CLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNNISYQMYDSLNYQAGAIKAKID
LEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNML
PKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNIILVGEVDKLKAKVNNSFQNTIPFNIFSY
TNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVGSSFLSPEHQRVQQR
KESKKPPAKLQPR

34. Sequência de proteína da fusão CT-GHRH-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR

THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVYADAI
FTNSYRKVLGQLSARKLLQDIMSRQQGESNQERGA

35. Sequência de proteína da fusão CT-GHRP-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVGSSFL
SPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR

36. Sequência de proteína da fusão CT-grelina-LHA

EFVNKQFNYKDPVNGVDIAYIKIPNAGQMQPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTN

PEEGDLNPPPEAKQVPVSYYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLG
RMLLTSIVRGIPFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSA
DIIQFECKSFGHEVLNLTRNGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGA
GKFATDPAVTLAHELIHAGHRLYGIAINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEE
LRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTLNKAKSIVGTTASLQYMK
NVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLKFDKLYKMLTEIYTEDNFVKFFKVLNRKTY
LNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTEINNMNFTKLKNF
TGLFEFYKLLCVDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQCIKVNNWDLFFSPSEDNF
TNDLNKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIG
QLELMPNIERFPNGKKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSVNEALLN
PSRVYTFFSSDYVKKVNKATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVSTTDKIADI
TIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILLEFIPEIAIPVLGTFALVSYIAN
KVLTVQTIDNALSKRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQIDLIRKKMKEALENQ
AEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININKFLNQCSV
SYLMNSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDKVNNTL
STDIPFQLSKYVDNQRLLSTLEGGGGSGGGGSGGGGSALVGSSFLSPEHQ
RVQQRKESKKPPAKLQPR

37. Sequência de proteína da fusão IgA-$H_N$tet-CT-SST14

ESNQPEKNGTATKPENSGNTTSENGQTEPEKKLELRNVSDIELYSQTNGTY
RQHVSLDGIPENTDTYFVKVKSSAFKDVYIPVASITEEKRNGQSVYKITAKAE
KLQQELENKYVDNFTFYLDKKAKEENTNFTSFSNLVKAINQNPSGTYHLAA
SLNANEVELGPDERSYIKDTFTGRLIGEKDGKNYAIYNLKKPLFENLSGATV
EKLSLKNVAISGKNDIGSLANEATNGTKIKQVHVDGCVDGIITSKTKSDDDDK
NKALNLQCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKII
VDYNLQSKITLPNDRTTPVTKGIPYAPEYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQ
KSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGILFLQWVRDIID
DFTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLE
YIPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTV
NTQFQKRSYQMYRSLEYQVDAIKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKLE
EKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKNILMQYIKANS
KFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFSYSKNLDCWVDNEEDIDVLEGGGGSGG
GGSGGGGSALVAGCKNFFWKTFTSC

38. Sequência de proteína da fusão IgA-$H_N$tet-CT-GHRP

ESNQPEKNGTATKPENSGNTTSENGQTEPEKKLELRNVSDIELYSQTNGTY
RQHVSLDGIPENTDTYFVKVKSSAFKDVYIPVASITEEKRNGQSVYKITAKAE
KLQQELENKYVDNFTFYLDKKAKEENTNFTSFSNLVKAINQNPSGTYHLAA
SLNANEVELGPDERSYIKDTFTGRLIGEKDGKNYAIYNLKKPLFENLSGATV
EKLSLKNVAISGKNDIGSLANEATNGTKIKQVHVDGCVDGIITSKTKSDDDDK
NKALNLQCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKII
VDYNLQSKITLPNDRTTPVTKGIPYAPEYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQ
KSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGILFLQWVRDIID
DFTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLE
YIPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTV
NTQFQKRSYQMYRSLEYQVDAIKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKLE
EKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKNILMQYIKANS
KFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFSYSKNLDCWVDNEEDIDVLEGGGGSGG
GGSGGGGSALVGSSFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKLQPR

39. Sequência de proteína da fusão CT-grelina S3W-LHA

EFVNKQFNYKDPVNGVDIAYIKIPNAGQMQPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTN
PEEGDLNPPPEAKQVPVSYYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLG
RMLLTSIVRGIPFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSA
DIIQFECKSFGHEVLNLTRNGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGA
GKFATDPAVTLAHELIHAGHRLYGIAINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEE
LRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTLNKAKSIVGTTASLQYMK
NVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLKFDKLYKMLTEIYTEDNFVKFFKVLNRKTY
LNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTEINNMNFTKLKNF
TGLFEFYKLLCVDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQCIKVNNWDLFFSPSEDNF
TNDLNKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIG
QLELMPNIERFPNGKKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSVNEALLN
PSRVYTFFSSDYVKKVNKATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVSTTDKIADI
TIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILLEFIPEIAIPVLGTFALVSYIAN
KVLTVQTIDNALSKRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQIDLIRKKMKEALENQ
AEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININKFLNQCSV
SYLMNSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDKVNNTL

STDIPFQLSKYVDNQRLLSTLEIYALVGSWFLSPEHQRVQQRKESKKPPAKL
QPR

40. Sequência de proteína da fusão CT-GRP-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVGNHW
AVGHLM

41. Sequência de proteína da fusão CT-GRP-LHB

PVTINNFNYNDPIDNNNIIMMEPPFARGTGRYYKAFKITDRIWIIPERYTFGYK
PEDFNKSSGIFNRDVCEYYDPDYLNTNDKKNIFLQTMIKLFNRIKSKPLGEKL
LEMIINGIPYLGDRRVPLEEFNTNIASVTVNKLISNPGEVERKKGIFANLIIFGP
GPVLNENETIDIGIQNHFASREGFGGIMQMKFCPEYVSVFNNVQENKGASIF
NRRGYFSDPALILMHELIHVLHGLYGIKVDDLPIVPNEKKFFMQSTDAIQAEE
LYTFGGQDPSIITPSTDKSIYDKVLQNFRGIVDRLNKVLVCISDPNININIYKNK
FKDKYKFVEDSEGKYSIDVESFDKLYKSLMFGFTETNIAENYKIKTRASYFS
DSLPPVKIKNLLDNEIYTIEEGFNISDKDMEKEYRGQNKAINKQAYEEISKEH
LAVYKIQMCVDEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIDVDNEDLFFIADKNSFSDDL
SKNERIEYNTQSNYIENDFPINELILDTDLISKIELPSENTESLTDFNVDVPVY

EKQPAIKKIFTDENTIFQYLYSQTFPLDIRDISLTSSFDDALLFSNKVYSFFSM
DYIKTANKVVEAGLFAGWVKQIVNDFVIEANKSNTMDAIADISLIVPYIGLALN
VGNETAKGNFENAFEIAGASILLEFIPELLIPVVGAFLLESYIDNKNKIIKTIDNA
LTKRNEKWSDMYGLIVAQWLSTVNTQFYTIKEGMYKALNYQAQALEEIIKYR
YNIYSEKEKSNINIDFNDINSKLNEGINQAIDNINNFINGCSVSYLMKKMIPLAV
EKLLDFDNTLKKNLLNYIDENKLYLIGSAEYEKSKVNKYLKTIMPFDLSIYTND
TILIEMFNKYNSLEGGGGSGGGGSGGGGSALVGNHWAVGHLM

42. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDNNNNNNNNNNDDDDKHVDAIFTQSYRKVLAQLSARK
LLQDILNRAEAAAKEAAAKALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENKIITDET
NVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYDDIT
KYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEKVNK
GVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIGNSALR
GNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLEQRV
KRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDLEYKKY
SGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNMLPKVIDE
LNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFSYTNNSL
LKDIINEYFN

43. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHA

EFVNKQFNYKDPVNGVDIAYIKIPNAGQMQPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTN
PEEGDLNPPPEAKQVPVSYYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLG
RMLLTSIVRGIPFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSA
DIIQFECKSFGHEVLNLTRNGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGA
GKFATDPAVTLAHELIHAGHRLYGIAINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEE

LRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTLNKAKSIVGTTASLQYMK
NVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLKFDKLYKMLTEIYTEDNFVKFFKVLNRKTY
LNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTEINNMNFTKLKNF
TGLFEFYKLLCVDGIITSKTKSLIEGRHVDAIFTQSYRKVLAQLSARKLLQDIL
NRQQGERNQEQGALAGGGGSGGGGSGGGGSALVLQCIKVNNWDLFFSP
SEDNFTNDLNKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENL
SSDIIGQLELMPNIERFPNGKKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSV
NEALLNPSRVYTFFSSDYVKKVNKATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVST
TDKIADITIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILLEFIPEIAIPVLGTFAL
VSYIANKVLTVQTIDNALSKRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQIDLIRKKMKE
ALENQAEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININKFL
NQCSVSYLMNSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDK
VNNTLSTDIPFQLSKYVDNQRLLST

44. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHC

PITINNFNYSDPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSN
PNLNKPPRVTSPKSGYYDPNYLSTDSDKDTFLKEIIKLFKRINSREIGEELIYR
LSTDIPFPGNNNTPINTFDFDVDFNSVDVKTRQGNNWVKTGSINPSVIITGP
RENIIDPETSTFKLTNNTFAAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRF
SKSEFCMDPILILMHELNHAMHNLYGIAIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEY
AEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYYRSIAKRLNSITTANPSSFNKYIGE
YKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNYAKIYNVQNRKI
YLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLSRNPALRKVNP
ENMLYLFTKFCVDAIDGRHVDAIFTQSYRKVLAQLSARKLLQDILNRQQGER
NQEQGALAGGGGSGGGGSGGGGSALVLQCRELLVKNTDLPFIGDISDVKT
DIFLRKDINEETEVIYYPDNVSVDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPG
ENQVFYDNRTQNVDYLNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVY
TYFPTLANKVNAGVQGGLFLMWANDVVEDFTTNILRKDTLDKISDVSAIIPYI
GPALNISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAFPEFTIPALGAFVIYSKVQERNEI
IKTIDNCLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNNISYQMYDSLNYQAGAI
KAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYL
FKNMLPKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNIILVGEVDKLKAKVNNSFQNTIP
FNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

45. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKHVDAIFTQSYRKVLAQLSARKLLQ
DILNRQQGERNQEQGAALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLP
YVADKDSISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLP
NVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEE
ALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKI
SDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTF
YSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMY
DSLSYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINK
FIRECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKV
NESFENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

46. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHD N10-PL5

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDNNNNNNNNNNDDDDKHVDAIFTQSYRKVLAQLSARK
LLQDILNRQQGERNQEQINTERVALOAPAPLQCIKVKNNRLPYVADKDSISQ
EIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLP

GEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYT
FLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIG
PALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKII
KTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADA
IKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYL
FKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMP
FNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

47. Sequência de proteína da fusão CP-qGHRH-LHD N10-HX12

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDNNNNNNNNNNDDDDKHVDAIFTQSYRKVLAQLSARK
LLQDILNRQQGERNQEQGAEAAAKEAAAKALQCIKVKNNRLPYVADKDSIS
QEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNL
PGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIY
TFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYI
GPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQERE
KIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQA
DAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSV
TYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFEN
TMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

48. Sequência de proteína da fusão CP-UTS-LHA

EFVNKQFNYKDPVNGVDIAYIKIPNAGQMQPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTN
PEEGDLNPPPEAKQVPVSYYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLG
RMLLTSIVRGIPFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSA
DIIQFECKSFGHEVLNLTRNGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGA

GKFATDPAVTLAHELIHAGHRLYGIAINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEE
LRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTLNKAKSIVGTTASLQYMK
NVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLKFDKLYKMLTEIYTEDNFVKFFKVLNRKTY
LNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTEINNMNFTKLKNF
TGLFEFYKLLCVDGGGGSADDDDKNDDPPISIDLTFHLLRNMIEMARIENER
EQAGLNRKYLDEVALAGGGGSGGGGSGGGGSALVLQCIKVNNWDLFFSP
SEDNFTNDLNKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENL
SSDIIGQLELMPNIERFPNGKKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSV
NEALLNPSRVYTFFSSDYVKKVNKATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVST
TDKIADITIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILLEFIPEIAIPVLGTFAL
VSYIANKVLTVQTIDNALSKRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQIDLIRKKMKE
ALENQAEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININKFL
NQCSVSYLMNSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDK
VNNTLSTDIPFQLSKYVDNQRLLST

49. Sequência de proteína de LH_N/A

EFVNKQFNYKDPVNGVDIAYIKIPNAGQMQPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTN
PEEGDLNPPPEAKQVPVSYYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLG
RMLLTSIVRGIPFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSA
DIIQFECKSFGHEVLNLTRNGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGA
GKFATDPAVTLAHELIHAGHRLYGIAINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEE
LRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTLNKAKSIVGTTASLQYMK
NVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLKFDKLYKMLTEIYTEDNFVKFFKVLNRKTY
LNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTEINNMNFTKLKNF
TGLFEFYKLLCVDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQCIKVNNWDLFFSPSEDNF
TNDLNKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIG
QLELMPNIERFPNGKKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSVNEALLN
PSRVYTFFSSDYVKKVNKATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVSTTDKIADI
TIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILLEFIPEIAIPVLGTFALVSYIAN
KVLTVQTIDNALSKRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQIDLIRKKMKEALENQ
AEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININKFLNQCSV
SYLMNSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDKVNNTL
STDIPFQLSKYVDNQRLLST

50. Sequência de proteína de LH_N/B

PVTINNFNYNDPIDNNNIIMMEPPFARGTGRYYKAFKITDRIWIIPERYTFGYK
PEDFNKSSGIFNRDVCEYYDPDYLNTNDKKNIFLQTMIKLFNRIKSKPLGEKL
LEMIINGIPYLGDRRVPLEEFNTNIASVTVNKLISNPGEVERKKGIFANLIIFGP
GPVLNENETIDIGIQNHFASREGFGGIMQMKFCPEYVSVFNNVQENKGASIF
NRRGYFSDPALILMHELIHVLHGLYGIKVDDLPIVPNEKKFFMQSTDAIQAEE
LYTFGGQDPSIITPSTDKSIYDKVLQNFRGIVDRLNKVLVCISDPNININIYKNK
FKDKYKFVEDSEGKYSIDVESFDKLYKSLMFGFTETNIAENYKIKTRASYFS
DSLPPVKIKNLLDNEIYTIEEGFNISDKDMEKEYRGQNKAINKQAYEEISKEH
LAVYKIQMCVDEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIDVDNEDLFFIADKNSFSDDL
SKNERIEYNTQSNYIENDFPINELILDTDLISKIELPSENTESLTDFNVDVPVY
EKQPAIKKIFTDENTIFQYLYSQTFPLDIRDISLTSSFDDALLFSNKVYSFFSM
DYIKTANKVVEAGLFAGWVKQIVNDFVIEANKSNTMDAIADISLIVPYIGLALN
VGNETAKGNFENAFEIAGASILLEFIPELLIPVVGAFLLESYIDNKNKIIKTIDNA
LTKRNEKWSDMYGLIVAQWLSTVNTQFYTIKEGMYKALNYQAQALEEIIKYR
YNIYSEKEKSNINIDFNDINSKLNEGINQAIDNINNFINGCSVSYLMKKMIPLAV
EKLLDFDNTLKKNLLNYIDENKLYLIGSAEYEKSKVNKYLKTIMPFDLSIYTND
TILIEMFNKYNS

51. Sequência de proteína de LH_N/C

PITINNFNYSDPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSN
PNLNKPPRVTSPKSGYYDPNYLSTDSDKDTFLKEIIKLFKRINSREIGEELIYR
LSTDIPFPGNNNTPINTFDFDVDFNSVDVKTRQGNNWVKTGSINPSVIITGP
RENIIDPETSTFKLTNNTFAAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRF
SKSEFCMDPILILMHELNHAMHNLYGIAIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEY
AEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYYRSIAKRLNSITTANPSSFNKYIGE
YKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNYAKIYNVQNRKI
YLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLSRNPALRKVNP
ENMLYLFTKFCVDAIDGRSLYNKTLQCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTDIFLR
KDINEETEVIYYPDNVSVDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQV
FYDNRTQNVDYLNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPT
LANKVNAGVQGGLFLMWANDVVEDFTTNILRKDTLDKISDVSAIIPYIGPALN
ISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAFPEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIIKTIDN

CLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNNISYQMYDSLNYQAGAIKAKID
LEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNML
PKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNIILVGEVDKLKAKVNNSFQNTIPFNIFSY
TNNSLLKDIINEYFN

52. Sequência de proteína de LH_N/D

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

53. Sequência de proteína de IgA-$H_N$tet

ESNQPEKNGTATKPENSGNTTSENGQTEPEKKLELRNVSDIELYSQTNGTY
RQHVSLDGIPENTDTYFVKVKSSAFKDVYIPVASITEEKRNGQSVYKITAKAE
KLQQELENKYVDNFTFYLDKKAKEENTNFTSFSNLVKAINQNPSGTYHLAA
SLNANEVELGPDERSYIKDTFTGRLIGEKDGKNYAIYNLKKPLFENLSGATV
EKLSLKNVAISGKNDIGSLANEATNGTKIKQVHVDGCVDGIITSKTKSDDDDK
NKALNLQCIKIKNEDLTFIAEKNSFSEEPFQDEIVSYNTKNKPLNFNYSLDKII
VDYNLQSKITLPNDRTTPVTKGIPYAPEYKSNAASTIEIHNIDDNTIYQYLYAQ
KSPTTLQRITMTNSVDDALINSTKIYSYFPSVISKVNQGAQGILFLQWVRDIID
DFTNESSQKTTIDKISDVSTIVPYIGPALNIVKQGYEGNFIGALETTGVVLLLE

YIPEITLPVIAALSIAESSTQKEKIIKTIDNFLEKRYEKWIEVYKLVKAKWLGTV
NTQFQKRSYQMYRSLEYQVDAIKKIIDYEYKIYSGPDKEQIADEINNLKNKLE
EKANKAMININIFMRESSRSFLVNQMINEAKKQLLEFDTQSKNILMQYIKANS
KFIGITELKKLESKINKVFSTPIPFSYSKNLDCWVDNEEDIDV

54. Peptídeo Octreotida sintetizado

Cys-Dphe-Cys-Phe-Dtrp-Lys-Thr-Cys-Thr-ol

55. Peptídeo agonista de GHRH sintetizado

HIS–ALA-ASP-ALA-ILE-PHE-THR-ASN-SER-TYR-ARG-LYS-VAL-LEU-GLY-GLN-LEU-SER-ALA-ARG-LYS-LEU-LEU-GLN-ASP-ILE-NLE-SER-ARG-CYS

56. Peptídeo antagonista de GHRH sintetizado

PhAc-Tyr-D-Arg-Asp-Ala-Ile-Phe(4-Cl)-Thr-Ala-Har-Tyr(Me)-His-Lys-Val-Leu-Abu-Gln-Leu-Ser-Ala-His-Lys-Leu-Leu-Gln-Asp-Ile-Nle-D-Arg-Har-CYS

57. Sequência de proteína de CP-MCH-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKDFDMLRCMLGRVYRPCWQVALAK
RLVLQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILD
GQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKL
SNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVE
DFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLE
GFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWL
SRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKN
SLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDS
HNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

58. Sequência de proteína de CT-KISS-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF
ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVYNWN
SFGLRFG

59. Sequência de proteína de CT-PrRP-LHA

EFVNKQFNYKDPVNGVDIAYIKIPNAGQMQPVKAFKIHNKIWVIPERDTFTN
PEEGDLNPPPEAKQVPVSYYDSTYLSTDNEKDNYLKGVTKLFERIYSTDLG
RMLLTSIVRGIPFWGGSTIDTELKVIDTNCINVIQPDGSYRSEELNLVIIGPSA
DIIQFECKSFGHEVLNLTRNGYGSTQYIRFSPDFTFGFEESLEVDTNPLLGA
GKFATDPAVTLAHELIHAGHRLYGIAINPNRVFKVNTNAYYEMSGLEVSFEE
LRTFGGHDAKFIDSLQENEFRLYYYNKFKDIASTLNKAKSIVGTTASLQYMK
NVFKEKYLLSEDTSGKFSVDKLKFDKLYKMLTEIYTEDNFVKFFKVLNRKTY
LNFDKAVFKINIVPKVNYTIYDGFNLRNTNLAANFNGQNTEINNMNFTKLKNF
TGLFEFYKLLCVDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQCIKVNNWDLFFSPSEDNF
TNDLNKGEEITSDTNIEAAEENISLDLIQQYYLTFNFDNEPENISIENLSSDIIG
QLELMPNIERFPNGKKYELDKYTMFHYLRAQEFEHGKSRIALTNSVNEALLN
PSRVYTFFSSDYVKKVNKATEAAMFLGWVEQLVYDFTDETSEVSTTDKIADI
TIIIPYIGPALNIGNMLYKDDFVGALIFSGAVILLEFIPEIAIPVLGTFALVSYIAN

KVLTVQTIDNALSKRNEKWDEVYKYIVTNWLAKVNTQIDLIRKKMKEALENQ
AEATKAIINYQYNQYTEEEKNNINFNIDDLSSKLNESINKAMININKFLNQCSV
SYLMNSMIPYGVKRLEDFDASLKDALLKYIYDNRGTLIGQVDRLKDKVNNTL
STDIPFQLSKYVDNQRLLSTLEGGGGSGGGGSGGGGSALVTPDINPAWYA
SRGIRPVGRFG

60. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-27-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQ
DIMALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFEN
KIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIV
FYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSL
AEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNI
GNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIEN
CLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKI
DLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKN
MLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNI
FSYTNNSLLKDIINEYFN

61. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-28-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ

FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQ
DIMSALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFE
NKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEI
VFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPS
LAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNI
GNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIEN
CLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKI
DLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKN
MLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNI
FSYTNNSLLKDIINEYFN

62. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN

IFSYTNNSLLKDIINEYFN

63. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-44-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQ
DIMSRQQGESNQERGARARLALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKN
NRLPYVADKDSISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVD
PLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTT
SVEEALGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDT
LDKISDVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALG
VFTFYSSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHIN
YQMYDSLSYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAM
NNINKFIRECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDR
LKAKVNESFENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

64. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_1-40-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNSYRKVLGQLSARKLLQ

DIMSRQQGESNQERGALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPY
VADKDSISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPN
VNMEPLNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEA
LGYSNKIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKIS
DVSVIIPYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFY
SSIQEREKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMY
DSLSYQADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINK
FIRECSVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKV
NESFENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

65. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala9-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNAYRKVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

66. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala22-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT

NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNSYRKVLGQLSARKALQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

67. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Lys11_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYKKVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL

NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

68. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Lys11_Arg12_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYKRVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

69. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Asn11_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ

FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYNKVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

70. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Lys20_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYRKVLGQLSAKKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN

IFSYTNNSLLKDIINEYFN

71. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Lys11_Lys20_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYKKVLGQLSAKKLLQD
IMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFE
NKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEI
VFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPS
LAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNI
GNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIEN
CLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKI
DLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKN
MLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNI
FSYTNNSLLKDIINEYFN

72. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Asn20_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYRKVLGQLSANKLLQ

DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

73. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Asn12_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYRNVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

74. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Asn21_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT

NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYRKVLGQLSARNLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

75. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Glu_7_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFEASYRKVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL

NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

76. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Glu_10_1-29LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASERKVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

77. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Glu_13_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ

FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYRKELGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

78. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYRKVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN

IFSYTNNSLLKDIINEYFN

79. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Glu8_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTESYRKVLGQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

80. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala15_1-27-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNSYRKVLAQLSARKLLQ

DIMALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFEN
KIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIV
FYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSL
AEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNI
GNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIEN
CLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKI
DLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKN
MLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNI
FSYTNNSLLKDIINEYFN

81. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala15-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTNSYRKVLAQLSARKLLQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

82. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_Ala15_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT

NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTASYRKVLAQLSARKLLQD
IMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFE
NKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEI
VFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPS
LAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNI
GNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIEN
CLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKI
DLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKN
MLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNI
FSYTNNSLLKDIINEYFN

83. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_9_15_22_27-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTAAYRKVLAQLSARKALQ
DIASRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL

NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

84. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_Ala8_9_15_22-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTAAYRKVLAQLSARKALQ
DIMSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

85. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_HVQAL_1-32-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ

FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKHVDAIFTQSYRKVLAQLSARKALQ
DILSRQQGALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSIS
QEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNL
PGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIY
TFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYI
GPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQERE
KIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQA
DAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSV
TYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFEN
TMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFN

86. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_HVSAL_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKHVDAIFTSSYRKVLAQLSARKLLQ
DILSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN

IFSYTNNSLLKDIINEYFN

87. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_HVTAL_1-29-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKHVDAIFTTSYRKVLAQLSARKLLQD
ILSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFE
NKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEI
VFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPS
LAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNI
GNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIEN
CLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKI
DLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKN
MLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNI
FSYTNNSLLKDIINEYFN

88. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_QALN-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTQSYRKVLAQLSARKALQ

DILNRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

89. Sequência de proteína da fusão CP-HS_GHRH_QAL-LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSDDDDKYADAIFTQSYRKVLAQLSARKALQ
DILSRALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIF
ENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGE
EIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLP
SLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPAL
NIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTI
ENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKA
KIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFK
NMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFN
IFSYTNNSLLKDIINEYFN

90. Sequência de proteína da fusão CP-hGHRH29 N8A M27L -LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT

NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSIEGRYADAIFTASYRKVLGQLSARKLLQDIL
SR

ALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENKIIT
DETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYD
DITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEK
VNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIGNS
ALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLE
QRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDLE
YKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNMLP
KVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFSYT
NNSLLKDIINEYFN

91. Sequência de proteína da fusão CP-hGHRH29 N8A K12N M27L -LHD

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDGIITSKTKSIEGR YADAIFTASYRNVLGQLSARKLLQ-
DILSR

ALAGGGGSGGGGSGGGGSALALQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENKIIT
DETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYD

DITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEK
VNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIGNS
ALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLE
QRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDLE
YKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNMLP
KVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFSYT
NNSLLKDIINEYFN

92. Sequência de proteína da fusão N-terminal-hGHRH29 N8A M27L -LHD

HVDAIFTQSYRKVLAQLSARKLLQDILNRNNNNNNNNNNTWPVKDFNYSDP
VNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDTNPSLSKPPRPTSK
YQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLINYLVVGSPFMGDS
STPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGPLPNILDYTASLTL
QGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVLGKSIFCMDPVIA
LMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQFEELYTFGGLDV
EIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDKYKKIFSEKYNFD
KDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNRTHYFSRHYLPVF
ANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLSSESVVDLFTKVC
VDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKDSISQEIFENKIITD
ETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEPLNLPGEEIVFYDD
ITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSNKIYTFLPSLAEKV
NKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVIIPYIGPALNIGNSA
LRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQEREKIIKTIENCLEQ
RVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSYQADAIKAKIDLEYK
KYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNMLPKVI
DELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESFENTMPFNIFSYTNN
SLLKDIINEYFN

SEQ ID 93 **proteína de fusão** GnRH-C

PITINNFNYSDPVDNKNILYLDTHLNTLANEPEKAFRITGNIWVIPDRFSRNSN
PNLNKPPRVTSPKSGYYDPNYLSTDSDKDTFLKEIIKLFKRINSREIGEELIYR
LSTDIPFPGNNNTPINTFDFDVDFNSVDVKTRQGNNWVKTGSINPSVIITGP
RENIIDPETSTFKLTNNTFAAQEGFGALSIISISPRFMLTYSNATNDVGEGRF

SKSEFCMDPILILMHELNHAMHNLYGIAIPNDQTISSVTSNIFYSQYNVKLEY
AEIYAFGGPTIDLIPKSARKYFEEKALDYYRSIAKRLNSITTANPSSFNKYIGE
YKQKLIRKYRFVVESSGEVTVNRNKFVELYNELTQIFTEFNYAKIYNVQNRKI
YLSNVYTPVTANILDDNVYDIQNGFNIPKSNLNVLFMGQNLSRNPALRKVNP
ENMLYLFTKFCVDAIDGRSLYNKTLQCRELLVKNTDLPFIGDISDVKTDIFLR
KDINEETEVIYYPDNVSVDQVILSKNTSEHGQLDLLYPSIDSESEILPGENQV
FYDNRTQNVDYLNSYYYLESQKLSDNVEDFTFTRSIEEALDNSAKVYTYFPT
LANKVNAGVQGGLFLMWANDVVEDFTTNILRKDTLDKISDVSAIIPYIGPALN
ISNSVRRGNFTEAFAVTGVTILLEAFPEFTIPALGAFVIYSKVQERNEIIKTIDN
CLEQRIKRWKDSYEWMMGTWLSRIITQFNNISYQMYDSLNYQAGAIKAKID
LEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIRECSVTYLFKNML
PKVIDELNEFDRNTKAKLINLIDSHNIILVGEVDKLKAKVNNSFQNTIPFNIFSY
TNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSALVMKPIQKLLAGLILLTW
CVEGCSSQHWSYGLRPGGKRDAENLIDSFQEIVKEVGQLAETQRFECTTH
QPRSPLRDLKGALESLIEEETGQKKI

SEQ ID 94 fusão GnRH-D

TWPVKDFNYSDPVNDNDILYLRIPQNKLITTPVKAFMITQNIWVIPERFSSDT
NPSLSKPPRPTSKYQSYYDPSYLSTDEQKDTFLKGIIKLFKRINERDIGKKLIN
YLVVGSPFMGDSSTPEDTFDFTRHTTNIAVEKFENGSWKVTNIITPSVLIFGP
LPNILDYTASLTLQGQQSNPSFEGFGTLSILKVAPEFLLTFSDVTSNQSSAVL
GKSIFCMDPVIALMHELTHSLHQLYGINIPSDKRIRPQVSEGFFSQDGPNVQ
FEELYTFGGLDVEIIPQIERSQLREKALGHYKDIAKRLNNINKTIPSSWISNIDK
YKKIFSEKYNFDKDNTGNFVVNIDKFNSLYSDLTNVMSEVVYSSQYNVKNR
THYFSRHYLPVFANILDDNIYTIRDGFNLTNKGFNIENSGQNIERNPALQKLS
SESVVDLFTKVCVDKSEEKLYDDDDKDRWGSSLQCIKVKNNRLPYVADKD
SISQEIFENKIITDETNVQNYSDKFSLDESILDGQVPINPEIVDPLLPNVNMEP
LNLPGEEIVFYDDITKYVDYLNSYYYLESQKLSNNVENITLTTSVEEALGYSN
KIYTFLPSLAEKVNKGVQAGLFLNWANEVVEDFTTNIMKKDTLDKISDVSVII
PYIGPALNIGNSALRGNFNQAFATAGVAFLLEGFPEFTIPALGVFTFYSSIQE
REKIIKTIENCLEQRVKRWKDSYQWMVSNWLSRITTQFNHINYQMYDSLSY
QADAIKAKIDLEYKKYSGSDKENIKSQVENLKNSLDVKISEAMNNINKFIREC
SVTYLFKNMLPKVIDELNKFDLRTKTELINLIDSHNIILVGEVDRLKAKVNESF

ENTMPFNIFSYTNNSLLKDIINEYFNLEGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSAL
VMKPIQKLLAGLILLTWCVEGCSSQHWSYGLRPGGKRDAENLIDSFQEIVK
EVGQLAETQRFECTTHQPRSPLRDLKGALESLIEEETGQKKI

Exemplo 1 - Preparação de um constructo de estrutura principal LH_N/A

O procedimento que segue cria um clone para aplicação como uma estrutura principal de expressão para expressão de proteína de multi-domínio. Este exemplo se baseia na preparação de um clone à base do sorotipo A (SEQ ID 1), embora os procedimentos e métodos sejam igualmente aplicáveis a todos os sorotipos LH_N tais como sorotipo B (SEQ ID 2), sorotipo C (SEQ ID 3) e sorotipo D (SEQ ID 4) e outras proteases e domínios de translocação ou tais como IgA e H_N Tetânica usando a sequência publicada apropriada para síntese (SEQ ID 32).

Preparação de vetores de clonagem e de expressão

pCR 4 (Invitrogen) é o vetor de clonagem de rotina de escolha escolhido devido à falta de sequências de restrição dentro do vetor e sítios de primers de sequenciamento adjacentes para fácil confirmação de constructo. O vetor de expressão se baseia no vetor de expressão pET (Novagen) o qual foi modificado para conter o sítio de clonagem múltipla *Nde*I-*Bam*HI-*Sal*I-*Pst*I-*Xba*I-*Hind*III para inserção de constructo, um fragmento do vetor de expressão foi removido para criar um plasmídeo não mobilizável, uma variedade de diferentes etiquetas de fusão foram inseridas para aumentar as opções de purificação e um sítio *Xba*I existente na estrutura principal do vetor foi removido para simplificar a subclonagem.

Preparação de LC/A

A sequência de DNA é designada por retro translação da sequência de aminoácidos LC/A (obtida a partir de fontes de bancos de dados livremente disponíveis tais como GenBank (número de acesso P10845) usando uma de uma variedade de ferramentas de softwares de translação reversa (por exemplo Backtranslation tool v2.0 (Entelechon)). As sequências de reconhecimento *Bam*HI/*Sal*I são incorporadas nas extremidades 5' e 3' respectivamente da sequência mantendo o frame de leitura correto. A se-

quência de DNA é triada (usando software tal como SeqBuilder, DNASTAR Inc.) para sequências de clivagem enzimática de restrição incorporadas durante a retro translação. Quaisquer sequências de clivagem que são consideradas comuns para aquelas requeridas pelo sistema de clonagem são removidas pela Backtranslation tool da sequência codificante proposta assegurando que seja mantido uso de codons de *E. coli* comum. O uso de codons de *E. coli* é avaliado por meio de referência a programas de softwares tais como Graphical Codon Usage Analyser (Geneart), e a % do teor de GC e taxa de uso de codons avaliada por meio de referência a tabelas de uso de codons publicadas (por exemplo, GenBank Release 143, de 13 de setembro de 2004). Esta sequência de DNA otimizada contendo o frame de leitura aberta LC/A (ORF) é em seguida sintetizada comercialmente (por exemplo, por Entelechon, Geneart ou Sigma-Genosys) e é proporcionada no vetor pCR 4.

Preparação de inserto H_N/A

A sequência de DNA é designada por retro translação da H_N/A sequência de aminoácidos (obtida a partir de fontes de bancos de dados livremente disponíveis tais como GenBank (número de acesso P10845) usando uma de uma variedade de ferramentas de softwares de translação reversa (por exemplo Back translation tool v2.0 (Entelechon)). Uma sequência de restrição *Pst*I adicionada ao N-término e *Xba*I-codon de interrupção-*Hin*dIII ao C-término assegurando que seja mantido o frame de leitura correto. A sequência de DNA é triada (usando software tal como SeqBuilder, DNASTAR Inc.) para sequências de clivagem enzimática de restrição incorporadas durante a retro translação. Quaisquer sequências que são consideradas comuns para aquelas requeridas pelo sistema de clonagem são removidas pela Backtranslation tool da sequência codificante proposta assegurando que seja mantido uso de codons de *E. coli* comum. O uso de codons de *E. coli* é avaliado por meio de referência a programas de softwares tais como Graphical Codon Usage Analyser (Geneart), e a % do teor de GC e taxa de uso de codons avaliada por meio de referência a tabelas de uso de codons publicadas (por exemplo, GenBank Release 143, de 13 de setembro

de 2004). Esta sequência de DNA otimizada é em seguida sintetizada comercialmente (por exemplo, por Entelechon, Geneart ou Sigma-Genosys) e é proporcionada no vetor pCR 4.

Preparação do interdomínio (ligante LC-H_N)

O ligante LC-H_N pode ser designado a partir do primeiro princípio, usando a informação de sequência existente para o ligante como o modelo. Por exemplo, o ligante do sorotipo A (definido neste caso como a região do polipeptídeo interdomínio que existe entre as cisteínas da ponte de dissulfeto entre LC e H_N) tem a sequência VRGIIPFKTKSLDEGYNKALNDL. Esta informação de sequência está livremente disponível a partir de fontes de bancos de dados disponíveis tais como GenBank (número de acesso P10845). Para produção de um sítio de clivagem de protease específico, a sequência de reconhecimento nativa para Fator Xa pode ser usada na sequência modificada VDGIITSKTKSLIEGR ou uma sequência de reconhecimento de enteroquinase é inserida dentro do loop de ativação para gerar a sequência VDGIITSKTKSDDDDKNKALNLQ. Usando uma de uma variedade de ferramentas de softwares de translação reversa (por exemplo Backtranslation tool v2.0 (Entelechon), a sequência de DNA codificando a região do ligante é determinada. Sequências enzimáticas de restrição *Bam*HI/*Sal*I e *Pst*I/*Xba*I/codon de interrupção/*Hin*dIII são incorporadas em sua extremidade, nos frames de leitura corretos. A sequência de DNA é triada (usando software tal como Seqbuilder, DNASTAR Inc.) para sequências de clivagem enzimática de restrição incorporadas durante a retro translação. Quaisquer sequências que são consideradas comuns para aquelas requeridas pelo sistema de clonagem são removidas pela Backtranslation tool da sequência codificante proposta assegurando que seja mantido uso de codons de *E. coli* comum. O uso de codons de *E. coli* é avaliado por meio de referência a programas de softwares tais como Graphical Codon Usage Analyser (Geneart), e a % do teor de GC e taxa de uso de codons avaliada por meio de referência a tabelas de uso de codons publicadas (por exemplo, GenBank Release 143, de 13 de setembro de 2004). Esta sequência de DNA otimizada é em seguida sintetizada comercialmente (por exemplo, por Entelechon, Geneart

ou Sigma-Genosys) e é proporcionada no vetor pCR 4.

Montagem e confirmação do clone da estrutura principal

Devido ao tamanho pequeno, o ligante de ativação deve ser transferido usando um processo de duas etapas. O vetor ligante pCR-4 é clivado com enzimas de restrição de combinação *Bam*HI + *Sal*I e o vetor ligante clivado em seguida serve como o receptor para DNA de LC clivado pelas enzimas de restrição *Bam*HI + *Sal*I. Uma vez que o DNA codificando LC é inserido a montante do DNA ligante, todo o fragmento de DNA ligante de LC pode ser em seguida isolado e transferido para o vetor de expressão de pET MCS. O LC-ligante é cortado do vetor de clonagem de pCR 4 usando enzimas de restrição *Bam*HI/*Pst*I. O vetor de expressão pET é digerido com as mesmas enzimas mas também é tratado com fosfatase antártica como uma precaução extra para prevenir re-circularização. O LC-ligante e a estrutura principal do vetor pET são purificados por gel e o inserto purificado a estrutura principal do vetor são ligados juntos usando T4 DNA ligase. O produto é transformado com células TOP10 as quais são em seguida triadas para LC-ligante usando digestão por restrição por *Bam*HI/*Pst*I. O processo é em seguida repetido para a inserção de H_N dentro do sítios de restrição *PstI*/*Hin*dIII do constructo pET-LC-ligante.

Triagem com enzimas de restrição é suficiente para assegurar que a estrutura principal final esteja correta uma vez que todos os componentes já são confirmados e sequenciados durante a síntese. No entanto, durante a subclonagem de alguns componentes dentro do estrutura principal, onde fragmentos de tamanhos similares estão sendo removidos e inseridos, é necessário o sequenciamento de uma pequena região para confirmar a correta inserção.

Exemplo 2 - Construção de LH_N/AA-CP-GS15-SST28

O procedimento que segue cria um clone para aplicação como um constructo de expressão para expressão de fusão multidomínio onde a porção de direcionamento (TM) é apresentada centralmente entre a protease e o domínio de translocação. Este exemplo se baseia na preparação da fusão LH_N/A-CP-GS15-SST28 (SEQ ID 25), embora os procedimentos e mé-

todos sejam igualmente aplicáveis para criar outras fusões de protease, domínio de translocação e porção de direcionamento, onde a porção de direcionamento é N-terminal ao domínio de translocação. Neste exemplo, um espaçador de glicina-serina de 15 aminoácidos flanqueante $(G_4S)3$ é manipulado dentro da sequência de interdomínio para assegurar acessibilidade do ligante a seu receptor, mas outros espaçadores são aplicáveis.

Preparação de inserto espaçador- SST28 humano

A região do ligante do polipeptídeo interdomínio LC-H_N existe entre as cisteínas da ponte de dissulfeto entre LC e H_N. Para inserção de um sítio de clivagem de protease, espaçador e uma região da porção de direcionamento (TM) dentro do loop de ativação, uma de uma variedade de ferramentas de softwares de translação reversa (por exemplo Backtranslation tool v2.0 (Entelechon) são usados para determinar a sequência de DNA codificando a região do ligante. Para apresentação central de uma sequência SST28 no N-término do domínio H_N, uma sequência de DNA é designada para as regiões do espaçador GS e da porção de direcionamento (TM) possibilitando incorporação dentro do clone da estrutura principal (SEQ ID 1). A sequência de DNA pode ser arranjada como *Bam*HI-*Sal*I-espaçador-sítio de ativação de protease-*SST28*-espaçador-*Pst*I-*Xba*I-codon de interrupção-*Hin*dIII (SEQ ID 5). Uma vez que o DNA da porção de direcionamento é designado, o DNA adicional requerido para codificar o espaçador preferencial é criado *in sílico*. É importante assegurar que o frame de leitura correto seja mantido para o espaçador, SST28 e sequências de restrição e que a sequência *Xba*I não seja precedida pelas bases TC, as quais resultariam em DAM metilação. A sequência de DNA é triada para sequência de restrição incorporada e quaisquer sítios adicionais são removidos manualmente da sequência remanescente assegurando que seja mantido uso de codons de *E. coli* comum. O uso de codons de *E. coli* é avaliado por meio de referência a programas de softwares tais como Graphical Codon Usage Analyser (Geneart), e a % do teor de GC e taxa de uso de codons avaliada por meio de referência a tabelas de uso de codons publicadas (por exemplo, GenBank Release 143, de 13 de setembro de 2004). Esta sequência de DNA otimiza-

da é em seguida sintetizada comercialmente (por exemplo, por Entelechon, Geneart ou Sigma-Genosys) e é proporcionada no vetor pCR 4.

Montagem e confirmação do clone da estrutura principal

De modo a criar um constructo LC-espaçador-sítio de ativação-SST28-espaçador-H_N (SEQ ID 25) usando o constructo de estrutura principal (SEQ ID 1) e o vetor pCR 4-espaçador-sítio de ativação-porção de direcionamento-espaçador recém sintetizado codificando a porção de direcionamento SST28 (SEQ ID 5), pode ser usado um método de uma ou duas etapas; tipicamente o método de duas etapas é usado quando o DNA da porção de direcionamento tem menos de 100 pares de bases. Usando o método de uma etapa a região do ligante SST28 pode ser inserida diretamente dentro do constructo de estrutura principal cortando o vetor pCR 4- espaçador-sítio de ativação-porção de direcionamento-espaçador com enzimas de restrição *Sal*I e *Pst*I e inserindo a porção de direcionamento codificando fragmento de DNA dentro de um constructo de estrutura principal pET cortado de modo similar. Usando o método de duas etapas o domínio LC é excisado do clone da estrutura principal usando enzimas de restrição *Bam*HI e *Sal*I e ligado dentro de vetor pCR 4- espaçador-sítio de ativação-porção de direcionamento-espaçador digerido de modo similar. Isto cria um ORF LC-espaçador-sítio de ativação-SST28-espaçador em pCR 4 que pode ser excisado do vetor usando as enzimas de restrição *Bam*HI e *Pst*I para subsequente ligação dentro do constructo de expressão pET de modo similar. O constructo final contém o LC-espaçador-sítio de ativação-SST28-espaçador-H_N DNA (SEQ ID 25) o qual resultará em uma proteína de fusão contendo a sequência ilustrada na SEQ ID 26.

Exemplo 3 - Expressão e purificação de uma proteína de fusão LH_N/A-CP-SST28

Este exemplo se baseia na preparação de uma proteína LH_N/A que incorpora um polipeptídeo da porção de direcionamento SST28 dentro da região do ligante interdomínio (SEQ ID 26), onde o ORF do vetor de expressão pET também codifica uma etiqueta de purificação de histidina. Estes procedimentos e métodos são igualmente aplicáveis às outras proteínas de

fusão tais como as mostradas nas SEQ ID 7-14, 42-48, 57, 60-91. Onde apropriado, a enzima de ativação deve ser selecionada para ser compatível com o sítio de ativação de protease dentro de cada sequência

Expressão de LH_N/A-CP-SST28

A expressão da proteína LH_N/A-CP-SST28 é obtida usando o seguinte protocolo. Inocular 100 ml de TB modificada contendo 0,2 % de glucosamina e 30 µg/ml de canamicina em um frasco de 250 ml com uma única colônia da cepa de expressão LHA-CP-SST28. Cultivar a cultura a 37°C, 225 rpm por 16 horas. Inocular 1 L de TB modificada contendo 0,2 % de glucosamina e 30 µg/ml de canamicina em um frasco de 2 L com 10 ml de cultura de um dia para o outro. Cultivar as culturas a 37°C até um OD_{600} nm de de cerca de 0,5 ser atingido em cujo ponto reduzir a temperatura até 16°C. Depois de 1 hora induzir as culturas com 1 mM de G e cultivar a 16°C por um adicional de 16 horas.

Purificação da proteína LH_N/A-CP-SST28

Descongelar tubo de falcon contendo 35 ml de HEPES a 50 mM pH 7,2, 200 mM de NaCl e aproximadamente 10 g de pasta de células de *E. coli* BL21 (DE3). Homogenizar a pasta de células (138 Kpa(20 psi)) assegurando que a amostra permaneça fria. Centrifugar as células lisadas a 18 000 rpm, 4°C por 30 minutos. Carregar o sobrenadante sobre uma coluna quelante carregada com 0,1 M de NiSO4 (é suficiente coluna de 20 a 30 ml) equilibrada com 50 mM de HEPES pH 7,2, 200 mM de NaCl. Usando uma etapa de gradiente de 10, 40 e 100 mM de imidazol, lavar a proteína ligada não específica e eluir a proteína de fusão com 200 mM de imidazol. A proteína de fusão eluída é dialisada contra 5 L de 50 mM de HEPES pH 7,2, 200 mM de NaCl a 4°C de um dia para o outro e o OD_{280} nm é medido para estabelecer a concentração de proteína. Adicionar 3,2 µl de enteroquinase (New England Biolabs) por mg de proteína de fusão e incubar estático de um dia para o outro a 25°C. Carregar sobre uma coluna quelante carregada com 0,1 M de NiSO4 (é suficiente coluna de 20 a 30 ml) equilibrada com 50 mM de HEPES pH 7,2, 200 mM de NaCl. Lavar coluna até linha basal com 50 mM de HEPES pH 7,2, 200 mM de NaCl. Usando uma etapa de gradiente de

10, 40 e 100 mM de imidazol, lavar a proteína ligada não específica e eluir a proteína de fusão com 200 mM de imidazol. Dialisar a proteína de fusão eluída contra 5 L de 50 mM de HEPES pH 7,2 150 mM de NaCl a 4°C de um dia para o outro e concentrar a fusão até cerca de 2 mg/ml, aliquotar a amostra e congelar a -20°C. Testar a proteína purificada usando OD_{280}, BCA e análise da pureza.

Exemplo 4 - Construção de LH_N/D-CT-GS20-CST28

O procedimento que segue cria um clone para aplicação como um constructo de expressão para expressão de fusão multidomínio onde a porção de direcionamento (TM) é apresentada C-terminalmente ao domínio de translocação. Este exemplo se baseia na preparação da fusão LH_N/D-CT-GS20-CST28 (SEQ ID 17), embora os procedimentos e métodos sejam igualmente aplicáveis para criar outras fusões de protease, domínio de translocação e porção de direcionamento, onde a porção de direcionamento de C-terminal ao domínio de translocação. Neste exemplo, um espaçador de glicina-serina de 20 aminoácidos flanqueante é manipulado dentro da sequência de interdomínio para assegurar acessibilidade do ligante a seu receptor, mas outros espaçadores são aplicáveis.

Preparação de espaçador- inserto CST28 humano

Para apresentação de uma sequência CST28 no C-término do domínio H_N, uma sequência de DNA é designada para flanquear as regiões do espaçador e da porção de direcionamento (TM) possibilitando incorporação dentro do clone da estrutura principal (SEQ ID 4). A sequência de DNA pode ser arranjada como *Bam*HI-*Sal*I-*Pst*I-*Xba*I-espaçador-*CST28*-codon de interrupção-*Hin*dIII (SEQ ID 6). A sequência de DNA pode ser designada usando uma de uma variedade de ferramentas de softwares de translação reversa (por exemplo, EditSeq best *E. coli* reverse translation (DNASTAR Inc.), ou Backtranslation tool v2.0 (Entelechon)). Uma vez que o DNA da porção de direcionamento é designado, o DNA adicional requerido para codificar o espaçador preferencial é criado *in sílico*. É importante assegurar que o frame de leitura correto seja mantido para o espaçador, CST28 e sequências de restrição e que a sequência *Xba*I não seja precedida pelas bases

TC, as quais resultariam em DAM metilação. A sequência de DNA é triada para sequências de restrição incorporadas e quaisquer sequências adicionais são removidas manualmente da sequência remanescente assegurando que seja mantido uso de codons de *E. coli* comum. O uso de codons de *E. coli* é avaliado por meio de referência a programas de softwares tais como Graphical Codon Usage Analyser (Geneart), e a % do teor de GC e taxa de uso de codons avaliada por meio de referência a tabelas de uso de codons publicadas (por exemplo, GenBank Release 143, de 13 de setembro de 2004). Esta sequência de DNA otimizada é em seguida sintetizada comercialmente (por exemplo, por Entelechon, Geneart ou Sigma-Genosys) e é proporcionada no vetor pCR 4.

Montagem e confirmação do clone da estrutura principal

De modo a criar um construct LH_N/D-GS20-CST28 (SEQ ID 17) usando o constructo de estrutura principal (SEQ ID 4) e o vetor pCR 4-espaçador-porção de direcionamento recém sintetizado codificando a porção de direcionamento CST28 (SEQ ID 6), pode ser usado um método de uma ou duas etapas; tipicamente o método de duas etapas é usado quando o DNA da porção de direcionamento tem menos de 100 pares de bases. Usando o método de uma etapa o CST28 pode ser inserido diretamente dentro do constructo de estrutura principal cortando o vetor pCR 4-espaçador-porção de direcionamento com enzimas de restrição *Xba*I e *Hind*III e inserindo a porção de direcionamento codificando fragmento de DNA em um constructo de estrutura principal pET cortado de modo similar. Usando o método de duas etapas o domínio LH_N é excisado do clone da estrutura principal usando enzimas de restrição *Bam*HI e *Xba*I e ligado em vetor pCR 4-espaçador-CST28 digerido de modo similar. Isto cria um ORF LH_N-espaçador-CST28 em pCR 4 que pode ser excisado do vetor usando enzimas de restrição *Bam*HI e *Hind*III para ligação subsequente dentro do constructo de expressão pET clivado de modo similar. O constructo final contém o LC-ligante-H_N-espaçador-CST28 DNA (SEQ ID 17) o qual resultará em uma proteína de fusão contendo a sequência ilustrada na SEQ ID 18.

Exemplo 5 - Expressão e purificação de uma proteína de fusão

LH_N/D-CT-CST28

Este exemplo se baseia na preparação de uma proteína LH_N/D que incorpora um polipeptídeo de porção de direcionamento CST28 no término carboxila do domínio H_N (SEQ ID 18), onde o ORF do vetor de expressão pET também codifica uma etiqueta de purificação de histidina. Estes procedimentos e métodos são igualmente aplicáveis a sequências de proteínas de fusão tais como as mostradas nas SEQs ID 15, 16, 18-24, 27-31, 33-41, 58-59, e 93-94. Onde apropriado, a enzima de ativação deve ser selecionada para ser compatível com o sítio de ativação de protease dentro de cada sequência.

Expressão de LH_N/D-CT-CST28

Expressão da proteína LH_N/D-CT-CST28 é obtida usando o seguinte protocolo. Inocular 100 ml de TB modificada contendo 0,2 % de glucosamina e 30 µg/ml de canamicina em um frasco de 250 ml com uma única colônia da cepa de expressão LH_N/D-CT-CST28. Cultivar a cultura a 37°C, 225 rpm por 16 horas. Inocular 1 L de TB modificada contendo 0,2 % de glucosamina e 30 µg/ml de canamicina em um frasco de 2 L com 10 ml de cultura de um dia para o outro. Cultivar as culturas a 37°C até um OD_{600} nm de de cerca de 0,5 ser atingido em cujo ponto reduzir a temperatura até 16°C. Depois de 1 hora induzir as culturas com 1 mM de G e cultivar a 16°C por um adicional de 16 horas.

Purificação da proteína LH_N/D-CT-CST28

Descongelar tubo de falcon contendo 35 ml de HEPES a 50 mM pH 7,2, 200 mM de NaCl e aproximadamente 10 g de pasta de células de *E. coli* BL21 (DE3). Homogenizar a pasta de células (20psi) assegurando que a amostra permaneça fria. Centrifugar as células lisadas a 18 000 rpm, 4°C por 30 minutos. Carregar o sobrenadante sobre uma coluna quelante carregada com 0,1 M de NiSO4 (é suficiente coluna de 20 a 30 ml) equilibrada com 50 mM de HEPES pH 7,2, 200 mM de NaCl. Usando uma etapa de gradiente de 10, 40 e 100 mM de imidazol, lavar a proteína ligada não específica e eluir a proteína de fusão com 200 mM de imidazol. A proteína de fusão eluída é dialisada contra 5 L de 50 mM de HEPES pH 7,2, 200 mM de NaCl

a 4°C de um dia para o outro e o OD_{280} nm é medido para estabelecer a concentração de proteína. Adicionar 3,2 µl de enteroquinase (New England Biolabs) por mg de proteína de fusão e incubar estático de um dia para o outro a 25°C. Carregar sobre uma coluna quelante carregada com 0,1 M de NiSO4 (é suficiente coluna de 20 a 30 ml) equilibrada com 50 mM de HEPES pH 7,2, 200 mM de NaCl. Lavar coluna até linha basal com 50 mM de HEPES pH 7,2, 200 mM de NaCl. Usando uma etapa de gradiente de 10, 40 e 100 mM de imidazol, lavar a proteína ligada não específica e eluir a proteína de fusão com 200 mM de imidazol. Dialisar a proteína de fusão eluída contra 5 L de 50 mM de HEPES pH 7,2 150 mM de NaCl a 4°C de um dia para o outro e concentrar a fusão até cerca de 2 mg/ml, aliquotar a amostra e congelar a -20°C. Testar a proteína purificada usando OD_{280}, BCA e análise da pureza. As figuras 1 e 2 demonstram purificação de proteínas de fusão conforme analisado por SDS-PAGE.

Exemplo 6 - Conjugação química de LH_N/A a porção de direcionamento de SST (SST TM)

O procedimento que segue cria uma molécula quimicamente conjugada contendo a sequência de aminoácidos LH_N/A (SEQ ID 49), preparada a partir da SEQ ID 1 usando o método de produção resumido no exemplo 3, e um peptídeo SST Octreotida o qual foi sintetizado quimicamente (SEQ ID 54). No entanto, os procedimentos e métodos são igualmente aplicáveis para a conjugação de outros peptídeos tais como SEQ ID 55 e SEQ ID 56 a outras proteínas de protease/domínio de translocação tais como aquelas contendo as sequências de aminoácidos SEQ ID 50, 51, 52 e 53.

A proteína LH_N/A foi permutada com tampão de 50 mM de Hepes 150 mM de sal em PBSE (100 mM de 14,2 g de NA2HPO4, 100 mM de 5,85 g de NaCl, 1 mM de $EDTANa_2$ pH 7,5 com 1 M de HCl) usando a coluna Bio-rad de PD10. Isto foi feito lavando um volume de coluna de PBSE através da coluna de PD10, a proteína foi em seguida adicionada à coluna até não saírem mais gotas na extremidade da coluna de PD10. 8 mls de PBSE foi em seguida adicionado e são coletadas frações de 0,5 ml. As frações coletadas são as medidas usando a leitura A_{280} e as frações contendo

proteína são reunidas. Uma concentração de 1,55 mg/ml de LH_N/A foi obtida da etapa de permuta de tampão e esta foi usada para estabelecer as seguintes reações:

LH_N/A 1,55 mg/ml	20 mM de SPDP ou Sulfo-LC-SPDP
A 200 µl	0
B 200 µl	aumento de 4 vezes 0,62 µl
C 200 µl	aumento de 8 vezes 1,24 µl

As amostras foram deixadas para correr em temperatura ambiente por 3 horas antes de serem passadas para baixo em outra coluna de PD10 para permuta de tampão em PBSE e as frações contendo proteína foram reunidas. Uma concentração final de 25 mM de DTT foi em seguida adicionada a proteína derivada e em seguida as amostras foram deixadas em temperatura ambiente por 10 minutos. Em seguida foram tomadas as leituras A_{280} e A_{343} para realizar a proporção da interação SPDP:LH_N/A e a reação que resultou em uma provisão de derivatização de entre 1 e 3 foi usada para a conjugação do peptídeo. O reagente SPDP liga às aminas primárias da LH_N/A através de um éster de N-hidroxissuccinimida (NHS), deixando a porção reativa a sulfidril para formar uma ligação dissulfeto ao grupamento SH livre sobre a cisteína livre sobre o peptídeo sintetizado. Neste case a sequência de peptídeos é Octreotida a qual foi sintetizada com uma cisteína livre sobre o N-término (SEQ ID 91). A LH_N/A derivada por SPDP foi misturada com um excesso de 4 vezes do ligante de Octreotida e a reação foi em seguida deixada em temperatura ambiente por 90 minutos enquanto correndo. O excesso de octreotida foi em seguida removido usando também uma coluna de PD10 deixando molécula conjugada de LH_N/A-Octreotida.

Exemplo 7 - Atividade de SST-LH_N/A em células endócrinas cultivadas (AtT20)

A linhagem celular de tumor de pituitária de rato AtT20 é um exemplo de uma linhagem celular de origem endócrina. Portanto representa uma linhagem celular modelo para a investigação de efeitos de inibição-deliberação dos agentes.

As células AtT20 possuem receptores superficiais que possibilitam a ligação, e internalização de SST-LH_N/A. Em contraste, as células

AtT20 carecem de receptores adequados para neurotoxinas clostridiais e portanto não são suscetíveis a neurotoxinas botulínicas (BoNTs).

A figura 3 (a) ilustra a inibição da liberação de ACTH por células AtT20 depois de incubação prévia com SST-LH_N/A. É evidente que se observa inibição dose-dependente, indicando que SST-LH_N/A pode inibir a liberação de ACTH partir de um modelo de células endócrinas. Foi demonstrado que a inibição da liberação de ACTH se correlaciona com clivagem da proteína SNARE SNAP25 (figura 3 (a) e (b)) Deste modo, a inibição da liberação de mensageiro químico é devida a um efeito mediado por endopeptidase clostridial de clivagem da proteína SNARE.

Materiais e Métodos

Kits de imunoensaio enzimático de ACTH foram obtidos da Bachem Research Inc., CA, EUA. Reagentes de *Western blotting* foram obtidos da Invitrogen e da Sigma. Células AtT20 foram semeadas sobre lâminas de 12 cavidades e cultivadas em DMEM contendo 10% de soro fetal bovino, 4 mM de Glutamax. Depois de 1 dia SST-LH_N/A foi aplicado por 72 horas e em seguida as células foram lavadas para remover SST-LH_N/A não ligado. A secreção de ACTH foi estimulada elevando a concentração de potássio extracelular (60 mM de KCl) e cálcio (5 mM de $CaCl_2$) por 30 min. O meio foi colhido das células e armazenado a -20°C até ser avaliado para teor de ACTH usando o kit de imunoensaio e seguindo as instruções do fabricante. As células foram solubilizadas em 1x LDS eletroforese tampão de amostra redutor, aquecidas por 10 minutos a 90°C e em seguida armazenadas a -20°c até serem usadas para *Western blotting*. A secreção estimulada foi calculada subtraindo a liberação basal da liberação total sob condições de estimulação. As amostras celulares solubilizadas foram separadas por SDS-PAGE e transferidas para membrana de nitrocelulose. Proteólise de SNAP-25, um componente crucial do processo neurosecretor e o substrato para a atividade de endopeptidase zinco-dependente de BoNT/A, foi em seguida detectada sondando com um anticorpo que reconhece tanto formas intactas quanto clivadas de SNAP-25. Foi obtida quantificação da proteólise por análise de imagem usando um sistema de estudo por imagens de Synoptics Syngene

GeneGnome e o software GeneTools.

Exemplo 8 - Atividade de SST-LH_N/D em células neuroendócrinas cultivadas (GH3)

A linhagem de células de pituitária de rato GH3 é um exemplo de uma linhagem celular de origem neuroendócrina. Portanto representa uma linhagem celular modelo para a investigação de efeitos de inibição-da-liberação dos agentes.

As células GH3 possuem receptores superficiais que possibilitam a ligação, e internalização de SST-LH_N/D. Em contraste, as células GH3 carecem de receptores adequados para neurotoxinas clostridiais e portanto não são suscetíveis a neurotoxinas botulínicas (BoNTs).

A figura 4 ilustra a inibição da liberação de hormônio do crescimento (GH) por células GH3 depois de incubação prévia com SST-LH_N/D É evidente que se observa inibição dose-dependente, indicando que SST-LH_N/D pode inibir a liberação de GH a partir de um modelo de células neuroendócrinas.

A comparação dos efeitos de inibição observados com conjugado e a LH_N/D não direcionada demonstra a contribuição da porção de direcionamento (TM) para eficiente inibição da liberação do transmissor.

Materiais e Métodos

Kits de imunoensaio enzimático de GH foram obtidos da Millipore, MA, EUA. Células GH3 foram cultivadas sobre lâminas de 24 cavidades em mistura de nutriente F-10 (Ham) suplementada com 15 % de Soro de Cavalo, 2,5 % de FBS, 2 mM de L-Glutamina. As células foram tratadas com SST-LH_N/D ou LH_N/D por 72 horas e em seguida as células foram lavadas para remover SST-LH_N/D não ligado. A secreção foi estimulada expondo as células a 10 µM de acetato de tetradecanoil forbol (TPA, PMA) durante 30 min. O meio foi colhido das células e armazenado a -20°C até ser avaliado para teor de GH usando o kit de imunoensaio e seguindo as instruções do fabricante. A secreção estimulada foi calculada subtraindo a liberação basal da liberação total sob condições de estimulação.

Exemplo 9 - Método para aliviar sintomas acromegálicos por re-

dução dos níveis elevados de GH e de IGF-1 resultantes de adenoma da pituitária

Um homem de 35 anos de idade membro de um time regional de badminton é submetido a uma radiografia espinhal devido a dor na região inferior das costas. O médico observa crescimento ósseo anormal e, na anamnese, o homem relata incidentes cada vez mais frequentes de apnéia do sono e também pele progressivamente oleosa.

O médico recomenda medição dos níveis de IGF-1 circulantes e estes são considerados elevados. Testes subsequentes também mostram níveis circulantes de GH acima do normal de modo que é realizada uma varredura cranial por MRI. Esta mostra um tumor da pituitária de 9 mm de diâmetro. O paciente é tratado com uma proteína de fusão de porção de direcionamento de peptídeo de cortistatina ou de somatostatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31) por injeção i.v..

Em intervalos de 1 semana os níveis circulantes de IGF-1 são medidos e é visto que estão menores na primeira medição e reduzem de modo estável até 15% acima do normal durante as seis semanas seguintes. O nível de GH circulante é considerado normal neste momento. Uma dose adicional da medicação com medições a cada duas semanas do IGF-1 mostra que este hormônio estabilizou na extremidade superior do normal. Em seis semanas depois do segundo tratamento uma varredura cranial por MRI revela encolhimento do tumour até 6 mm. A terapia é continuada em uma dosagem reduzida em intervalos de dois meses com níveis de IGF-1 e de GH medidos na sétima semana. Estes são ambos estáveis na faixa normal e a apnéia do sono e a pele oleosa estão agora ausentes. Uma radiografia espinhal em uma ano depois do primeiro tratamento não apresenta aumento do tamanho ósseo a partir da observação original.

Exemplo 10 - Método para normalizar dedos hirsutos e inchados por redução dos níveis elevados de GH e de IGF-1 resultantes de adenoma da pituitária

Uma funcionária de confeitaria de 50 anos de idade do sexo feminino tem dificuldade crescente para remover sua aliança e eventualmente

visita seu médico. O médico também observa que os dedos da paciente têm mais pelo do que o esperado e, no questionamento, a paciente admite que ambas estas condições surgiram gradualmente. Testes clínicos subsequentes revelam um nível maior do que a média de GH circulante que não se altera depois de uma bebida de alto teor de glicose. Suspeita-se de uma condição acromegálica e uma varredura cranial por tomografia computadorizada confirma a presença de um pequeno tumor da pituitária.

Cirurgia é considerada inadequada de modo que a paciente é tratada com uma injeção i.v. de uma proteína de fusão de porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Dentro de quatro semanas o teste de tolerância a glicose mostra uma reação nos níveis de GH e nos níveis de IGF-1 próxima ao normal. O tratamento continua em intervalos de seis semanas e por volta do final da décima oitava semana a paciente consegue remover seu anel facilmente e o hirsutismo desapareceu.

Exemplo 11 - Método para melhorar as consequências de ressurgimento de adenoma da pituitária secretor de hormônio do crescimento

Um mergulhador de 52 anos de idade do sexo masculino se apresenta com sintomas acromegálicos progressivamente perceptíveis, incluindo dilatação de tecidos moles e aumento das extremidades. Testes meticulosos confirmam a presença de um adenoma da pituitária de 12 mm. Análogos de somatostatina são mal tolerados pelo paciente de modo que o tumor é ressecado e testes regulares durante 2 anos mostram que os níveis circulantes de GH e de IGF-1 estão na faixa superior do normal e não é administrada medicação adicional. Dezoito meses depois, ao se apresentar com hiperidrose e hipertensão moderada, observa-se que os níveis de GH e de IGF-1 estão acima do normal e uma varredura por tomografia computadorizada revela recrescimento do adenoma da pituitária. Repetir a ressecção é considerado indesejável.

O homem é tratado por administração i.v. de uma proteína de fusão de porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Um curso de radioterapia

também é administrado e depois de quatro semanas a hiperidrose e a hipertensão estão quase normais assim como os níveis de GH e de IGF-1. Durante os próximos três anos os sintomas não recidivam e não há recrescimento do tumor em cinco anos pós tratamento.

Exemplo 12 - Método para tratar pacientes acromegálicos resistentes a análogos de somatostatina

Depois de seis anos de controle com êxito dos níveis circulantes de GH e de IGF-1 por análogos de somatostatina, uma leitora de tarot de feira acromegálica de 60 anos de idade relata óbvia pele progressivamente oleosa e também odor corporal proeminente em consequência de hiperidrose. Ela é considerada intolerante a glicose e tem elevados circulantes níveis de IGF-1 e o aumento da dosagem de SSA não controla estes.

Ela é tratada por injeção localizada de uma proteína de fusão de porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Dentro de 14 dias a paciente relata uma redução significativa na transpiração. Durante o mês seguinte sua pele oleosa retorna ao normal e por esta ocasião seus níveis de GH e de IGF-1 estão ambos dentro da faixa normal. Esta situação permanece durante os próximos cinco anos.

Exemplo 13 - Método para tratar doença de Cushing em pacientes intolerantes a análogos de somatostatina

Uma estudante madura do sexo feminino de 30 anos de idade visita seu clínico geral para solicitar tratamento para ansiedade e depressão. O médico observa que a mulher tem uma face arredondada com aumento da gordura em torno do pescoço e também braços e pernas mais finos do que o normal. Na anamnese ela confirma um ciclo menstrual irregular. Um nível urinário de cortisol livre de 24 horas de 150 µg é medido sugerindo síndrome de Cushing. Varredura abdominal por MRI mostra que não há tumores adrenais presentes mas varredura cranial por MRI revela um pequeno tumor da pituitária.

O paciente é considerado inadequado para intervenção cirúrgica de modo que é tratado com uma proteína de fusão de porção de direciona-

mento peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31).

Exemplo 14 - Método para reverter impotência sexual feminina por tratamento de prolactinoma

Uma mulher de 36 anos de idade visita seu médico, preocupada a respeito de sua recente expressão de leite pelas mamas, apesar de seu teste negativo de gravidez. O exame também indica secura vaginal e ela confirma que perdeu sua libido. Os resultados dos testes clínicos são em grande parte normais com a notável exceção de moderada hiperprolactinemia. Uma varredura cranial por MRI indica um adenoma da pituitária, consistente com os elevados níveis de prolactina.

Ela é tratada por administração oral com uma preparação de uma proteína de fusão de porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Depois de oito dias ela não expressa mais leite nas mamas e seus níveis de umidade vaginal melhoraram significativamente. Depois de sete semanas a secura começa a retornar mas é quase imediatamente revertida por um segundo tratamento. Os tratamentos continuam em visitas a cada seis semanas à clínica de saúde sexual onde a mulher relata um retorno à atividade sexual normal.

Exemplo 15 - Método para produzir perda de peso por tratamento de insulinoma

Uma mulher de 64 anos de idade com um índice de massa corporal (BMI) de 39 foi diagnosticada com insulinoma inoperável. Ela deseja obter uma redução sustentada do apetite e peso para lhe possibilitar manter um interesse ativo em aeróbica de modo que é tratada por uma injeção sistêmica de uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Dentro de 10 a 14 dias depois do tratamento seu ganho de peso se estabilizou e por volta de 30 dias ocorreu perda de peso. A paciente mantém uma perda de peso significativa contanto que a medicação continue como uma série de injeções por 24 semanas.

Exemplo 16 - Método para tratar glucagonoma

Uma mulher de 63 anos de idade visita seu médico em um estado angustiado, tendo tido erupções desenvolvidas sobre suas nádegas, em torno de sua virilha e sobre suas pernas inferiores. Testes de sangue mostram que ela está anêmica e diabética. Ela também tem episódios diarreicos frequentes. O médico suspeita da presença de glucagonoma e uma varredura por tomografia computadorizada confirma a existência de um tumor na cauda do pâncreas.

A paciente é tratada com uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Depois de 4 semanas os episódios diarreicos cederam e as erupções clarearam significativamente. Sua contagem de células vermelhas também retornou quase ao normal. O tratamento é repetido em intervalos de seis semanas e os sintomas parmanecem em grande parte sob controle.

Exemplo 17 - Método para tratar diarreia e vermelhidão causados por VIPoma

Um homem de 49 anos de idade sofre de diarreia secretora associada com vermelhidão crônico. Testes clínicos indicam acidose metabólica, e uma varredura abdominal por tomografia computadorizada revela um tumor – quase certamente um VIPoma – próximo ao pâncreas.

Cirurgia não está disponível para o paciente de modo que ele é tratado com uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Dentro de 3 semanas o vermelhidão parou e a diarreia se tornou menos frequente. Por volta de sete semanas depois do tratamento todos os sintomas desapareceram e permanecem ausentes contanto que a terapia seja repetida em intervalos de aproximadamente 8 semanas.

Exemplo 18 - Método para tratar gastrinoma

Um homem de 47 anos de idade sofre de grave ulceração péptica que causa dor abdominal debilitante. Ele também experimenta episódios diarreicos inexplicados e eventualmente é diagnostado com gastrinoma in-

trapancreático por testes de sangue e estudo abdominal por ultrassom.

Ele é tratado por injeção intratumoral de uma medicação consistindo em uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31), ou fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo GnRH (por exemplo, SEQ ID 93-94). Dentro de uma semana os sintomas gástricos dolorosos começam a melhorar. A hipergastrinemia cedeu e os episódios diarreicos reduziram em gravidade e frequência. Este estado é característico por 7 semanas mas os níveis sanguíneos de gastrina começam a aumentar depois disso. A terapia é repetida em intervalos de 7 semanas e isto mantém a gastrina sanguínea em níveis normais e outros sintomas não recidivam.

Exemplo 19 - Método para tratar tireotoxicose causada por tirotrofinoma

Um membro feminino da tripulação de bordo de uma companhia aérea de 39 anos de idade visita seu médico queixando-se de transpiração excessiva, ligada com nervosismo previamente desconhecido, que começou a afetar sua capacidade para realizar seu trabalho. Durante a consulta é evidente um fino tremor e o doutor suspeita de tireotoxicose. A mulher é encaminhada a um endocrinologista que realiza uma série de testes de sangue. As principais anormalidades detectadas são níveis elevados de tiroxina mas também níveis elevados de TSH (tirotrofina), indicativo de um tirotrofinoma. Uma varredura por MRI da cabeça confirma a presença de um tumor da pituitária.

A mulher é tratada com uma medicação consistindo em uma proteína de fusão compreendendo porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Tanto a transpiração quanto o nervosismo declinam durante as duas semanas seguintes. Testes de sangue de seguimento a cada duas semanas mostram que tanto os níveis de tiroxina quanto de tirotrofina baixaram e eles atingem níveis normais por volta de seis semanas. A paciente é capaz de reassumir a plena atividade de trabalho.

Exemplo 20 - Método para tratar dilatação dos tecidos moles recorrente causada por acromegalia

Uma mulher de 72 anos de idade, já tendo sofrido cirurgia transesfenoidal para remover uma macroadenoma da pituitária, apresenta recidiva de sintomas acromegálicos (essencialmente dilatação dos dedos e língua e cansaço e letargia crescentes). Varredura cranial por MRI revela a presença de um microadenoma da pituitária putativo e testes sanguíneos ubsequentes confirmam elevados níveis circulantes de GH e de IGF-1.

Cirurgia é considerada incompatível com as condições médicas pré-existentes de modo que ela é tratada com uma medicação consistindo em uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Depois de uma semana ela relata se sentir mais ativa de modo geral e que a dilatação de seus dedos e língua reduziu perceptivelmente. Por volta de três semanas os sintomas recorrentes reverteram completamente e exame endocrinológico confirma uma normalização dos níveis de GH e de IGF-1. Ela é monitorada mensalmente e são administrados tratamentos repetidos em intervalos de 10 semanas. Este regime de dosagem mantém os níveis hormonais dentro da faixa normal e previne a recidiva dos sintomas.

Exemplo 21 - Método para tratar hirsutismo facial excessivo causado por Doença de Cushing

Uma consultora de beleza de 27 anos de idade começa a desenvolver perceptível crescimento de pelos faciais. Isto não é tratado adequadamente por métodos de remoção capilar de rotina e lhe está causando graves problemas psicológicos (ansiedade, depressão) em relação tanto a seu trabalho quanto a sua vida pessoal. Seu médico suspeita de síndrome de Cushing de modo que ela é encaminhada a um endocrinologista. Testes de sangue e de urina apresentam elevados níveis de cortisol e níveis ACTH, e um teste de estimulação de CRH se comprova positivo, confirmando a probabilidade de um tumor da pituitária secretor de ACTH. Varreduras por tomografia computadorizada de adrenal e da pituitária confirmam a presença

de um tumor da pituitária mas não anormalidade adrenal.

Depois de discussões com outros médicos a paciente opta por intervenção medicinal e é tratada com uma medicação consistindo em uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31), ou fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo GnRH (por exemplo, SEQ ID 93-94). Dentro de dez dias a mulher está começando a se sentir mais positiva e por volta do tempo de duas semanas ela precisa usar clareamento capilar ou cremes depilatórios com muito menor frequência. os sintomas começam a reaparecer em torno de dez a doze semanas de modo que é administrado um segundo tratamento. Ocorre um padrão similar de remissão dos sintomas, reaparecimento gradual e tratamento. Durante o terceiro tratamento, a paciente opta por remoção cirúrgica do tumor da pituitária. Monitoração de seguimento pelos dois anos seguintes não apresenta recidiva de sintomas ou tumor.

Exemplo 22 - Método para tratar galactorreia masculina causada por prolactinoma

Um jogador de rugby de 40 anos de idade do sexo masculino tem estado preocupado há algum tempo acerca do aumento do tamanho das mamas além do que é esperado do treinamento. Ele se torna altamente estressado quando uma gota de leite aparece na mama esquerda. Seu médico imediatamente suspeita da existência de um prolactinoma da pituitária e o encaminha a um radiologista e a um endocrinologista. Testes de sangue mostram hiperprolactinemia mas função tiroidiana normal. Uma varredura cranial por MRI mostra que está presente um tumor da pituitária.

Na ausência de qualquer efeito de massa tumoral o homem é tratado com uma medicação consistindo em uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31). Depois de somente quatro dias a expressão do leite cessou e depois de seis semanas houve uma redução mensurável em tecido de mama não muscular. Durante este período os níveis sanguíneos de prolactina foram medidos de quinze em

quinze dias e retornaram ao normal por volta da medição da quarta semana. O tratamento é repetido em intervalos de 12 semanas, durante cujo tempo não há recorrência de sintomas e não há indicação de crescimento tumoral. Cirurgia ou outro tratamento de redução do tumor é considerado desnecessário enquanto estas condições são características.

Exemplo 23 - Método para tratar múltiplos sintomas causados por insulinoma

Um homem de 51 anos de idade é diagnosticado com insulinoma depois de se apresentar ao mécido com uma variedade de condições ocorrendo recentemente incluindo visão turva, palpitações, fraqueza, amnésia e, desmaiou em duas ocasiões em três meses. O diagnóstico é confirmado por testes endocrinológicos e radiográficos.

Ele é tratado com uma medicação consistindo em uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de somatostatina ou de cortistatina (por exemplo, SEQ ID 7-16, 18-24, 26-31), ou fusão compreendendo um uma porção de direcionamento de peptídeo GnRH (por exemplo, SEQ ID 93-94). Dentro de uma semana seus níveis de visão e de energia retornaram quase ao normal e continuam a melhorar durante a quinzena seguinte. Em quatro semanas ele não está mais hipoglicêmico e neste ponto é realizada enucleação laparoscópica de um tumor da cabeça do pâncreas. Monitoração subsequente do paciente não registra retorno dos sintomas ou da massa tumoral e o paciente permanece saudável depois de três anos.

Exemplo 24 - Método para tratar pacientes acromegálicos resistentes a análogos de somatostatina

Depois de 3 anos de controle com êxito de GH e IGF-1 circulantes por análogos de somatostatina, uma funcionária de escritório acromegálica de 54 anos de idade relata óbvia pele progressivamente oleosa e também odor corporal proeminente em consequência de hiperidrose. É visto que ela é intolerante a glicose e tem níveis circulantes elevados de IGF-1 e o aumento da dosagem de SSA não controla estes.

Ela é tratada por injeção intravenosa de uma proteína de fusão

compreendendo um hormônio do crescimento liberando porção de direcionamento de peptídeo hormonal (por exemplo, SEQ ID 34, 42-47, 60-92). Dentro de 14 dias a paciente relata uma significativa redução na transpiração. Durante o mês seguinte sua pele oleosa retorna ao normal e nesta ocasião seus níveis de GH e de IGF-1 estão ambos dentro da faixa normal. Esta situação permanece durante os próximos cinco anos.

Exemplo 25 - Método para tratar doença de Cushing em pacientes intolerantes a análogos de somatostatina

Uma recepcionista de 37 anos de idade do sexo feminino visita seu clínico geral para solicitar tratamento para ansiedade e depressão. O médico observa que a mulher tem uma face arredondada com aumento de gordura em torno do pescoço e também braços e pernas mais finos do que o normal. Na anamnese ela confirma um ciclo menstrual irregular. Um nível urinário de cortisol livre de 24 horas de 150 µg é medido sugerindo síndrome de Cushing. Varredura abdominal por MRI mostra que não há tumores adrenais presentes mas varredura cranial por MRI revela um pequeno tumor da pituitária.

A paciente é considerada inadequada para intervenção cirúrgica de modo que é tratada com uma injeção intravenosa de proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de urotensina (por exemplo, SEQ ID 48).

Exemplo 26 - Método para reverter impotência sexual feminina por tratamento de prolactinoma

Uma mulher de 28 anos de idade visita seu médico, preocupada a respeito de sua recente expressão de leite nas mamas, apesar de seu teste negativo de gravidez. O exame também indica secura vaginal e ela confirma que perdeu sua libido. Os resultados dos testes clínicos são bastante normais com a notável exceção de moderada hiperprolactinemia. Uma varredura cranial por MRI indica um adenoma da pituitária, consistente com os níveis elevados de prolactina.

Ela é tratada por uma injeção intravenosa de uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de grelina

(GHRP) (por exemplo, SEQ ID 33, 35, 38), ou fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo GnRH (por exemplo, SEQ ID 93-94). Depois de quatro dias ela não expressa mais leite nas mamas e seus níveis de umidade vaginal melhoraram significativamente. Depois de treze semanas a secura começa a retornar mas é quase imediatamente revertida por um segundo tratamento. Os tratamentos continuam em visitas a cada doze semanas à clínica de saúde sexual onde a mulher relata um retorno à atividade sexual normal.

Exemplo 27 - Método para tratar doença de Cushing

Uma datilógrafa do sexo feminindo de 30 anos de idade visita seu clínico geral para solicitar tratamento para ansiedade e depressão. O médico observa que a mulher tem uma face arredondada com aumento de gordura em torno do pescoço e também braços e pernas mais finos do que o normal. Na anamnese ela confirma um ciclo menstrual irregular. Um nível urinário de cortisol livre de 24 horas de 200 µg é medido sugerindo síndrome de Cushing. Varredura abdominal por MRI mostra que não há tumores adrenais presentes mas varredura cranial por MRI revela um pequeno tumor da pituitária.

A paciente é considerada inadequada para intervenção cirúrgica de modo que é tratada com uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de bombesina (GRP) (por exemplo, SEQ ID 40-41), ou fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo GnRH (por exemplo, SEQ ID 93-94).

Exemplo 28 - Método para tratar gastrinoma

Um homem de 63 anos de idade sofre de grave ulceração péptica que causa dor abdominal debilitante. Ele também experimenta episódios diarreicos inexplicados e eventualmente é diagnosticado com gastrinoma intrapancreático por testes de sangue e estudo de ultrassom abdominal.

Ele é tratado por injeção intratumoral de uma medicação consistindo em uma proteína de fusão compreendendo um análogo da porção de direcionamento de peptídeo de cortistatina ou somatostatina (octreotida – SEQ ID 54), o qual tenha sido quimicamente conjugado à proteína de trans-

locação de protease (por exemplo, SEQ ID 49-53). Dentro de uma semana os sintomas gástricos dolorosos começam a melhorar. A hipergastrinemia cedeu e os episódios diarreicos reduziram em gravidade e frequência. Este estado é característico por 8 semanas mas os níveis sanguíneos de gastrina começam a aumentar depois disso. A terapia é repetida em intervalos de 8 semanas e isto mantém a gastrina sanguínea em níveis normais e outros sintomas não reaparecem.

Exemplo 29 - Método para aliviar sintomas acromegálicos por redução dos níveis elevados de GH e de IGF-1 resultantes de adenoma da pituitária

Uma mulher de 50 anos de idade relata a seu clínico geral incidentes progressivos de apnéia do sono e também pele progressivamente oleosa e o clínico geral observa crescimento ósseo anormal.

O clínico geral recomenda a medição do IGF-1 circulante e estes são considerados elevados. Testes subsequentes também mostram níveis circulantes de GH acima do normal de modo que é realizada uma varredura cranial por MRI. Esta mostra um tumor da pituitária de 5 mm de diâmetro. A paciente é tratada com uma proteína de fusão MCH (por exemplo, SEQ ID 57) por injeção i.v..

Em intervalos de 1 semana os níveis circulantes de IGF-1 são medidos e é visto que estão menores na primeira medição e reduzem de modo estável até 5% acima do normal durante as oito semanas seguintes. O nível de GH circulante é considerado normal neste momento. Uma dose adicional da medicação com medições quinzenais de IGF-1 mostra que este hormônio estabilizou na extremidade superior do normal. Em seis semanas depois do segundo tratamento uma varredura cranial por MRI revela encolhimento do tumor para 3 mm. A terapia é continuada em uma dosagem reduzida em intervalos de dois meses com níveis de IGF-1 e de GH medidos na sétima semana. Estes estão ambos estáveis na faixa normal e a apnéia do sono e a pele oleosa estão agora ausentes.

Exemplo 30 - Método para tratar pacientes acromegálicos resistentes a análogos de somatostatina

Depois de 1 ano de controle com êxito de GH e IGF-1 circulante por análogos de somatostatina, um motorista de perfuratriz acromegálico de 40 anos de idade relata óbvia pele progressivamente oleosa e também odor corporal proeminente em consequência de hiperidrose. Descobre-se que ele é intolerante a glicose e tem níveis circulantes elevados de IGF-1 e o aumento da dosagem de SSA não controla estes.

Ele é tratado por injeção intravenosa de uma proteína de fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo de ligação KISS1R (por exemplo, SEQ ID 58), ou fusão compreendendo uma porção de direcionamento de peptídeo GnRH (por exemplo, SEQ ID 93-94). Dentro de 14 dias o paciente relata uma significativa redução na transpiração. Durante o mês seguinte sua pele oleosa retorna ao normal e neste momento seus níveis de GH e de IGF-1 estão ambos dentro da faixa normal. Esta situação permanece durante os próximos cinco anos.

Exemplo 31 - Método para tratar acromegalia

Uma paciente relata a seu clínico geral que ela não cabe mais em seus sapatos tamanho 8, um tamanho que ela usou durante os últimos 25 anos, e que sua aliança não caberia mais. Depois de excluir obesidade, o clínico geral suspeita que isto pode ser o resultado de um distúrbio da pituitária, o clínico geral encaminha a paciente para testes os quais confirmam níveis de IGF-1 e de GH significativamente elevados. Uma MRI cranial confirma a presença de um adenoma de pituitária.

Ela é tratada por injeção intravenosa de uma proteína de fusão compreendendo um receptor do hormônio de liberação de prolactina ligando porção de direcionamento de peptídeo (por exemplo, SEQ ID 59). Durante os meses seguintes os níveis de GH e de IGF-1 retornam ao normal e isto é mantido por uma injeção trimestral da proteína de fusão.

Exemplo 32 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis de IGF-1 de rato *in vivo*

Objetivos

Avaliar o impacto de administração i.v. de fusão CP-GHRH-LHD sobre os níveis de IGF-1 em ratos cinco dias depois de tratamento em com-

paração com controle tratado apenas com veículo.

Materiais e Métodos

Animais: ratos Sprague-Dawley adultos machos mantidos sob condições de alojamento de rotina com com luzes ligadas às 05:00 horas (14 horas de luz:10 horas de escuridão), comida e água disponíveis à vontade e habituados às condições de alojamento por no mínimo 1 semana antes da cirurgia.

Cirurgia: no dia 1 do estudo os ratos (200 a 250 g) serão anestesiados com uma combinação de Hypnorm (0,32 mg/kg de citrato de fentanila e 10 mg/kg de fluanisona, i.m.) e diazepam (2,6 mg/kg i.p.). A veia jugular direita é exposta e uma cânula de politeno de ponta silástica (i.d. 0,50 mm, o.d. 0,93 mm) (Portex, Reino Unido) é inserida dentro do vaso até se situar próxima à entrada do átrio direito. As cânulas serão preenchidas com solução salina isotônica heparinizada (10 UI/ml). A extremidade livre das cânulas serão exteriorizadas através de uma incisão no couro cabeludo e em seguida passadas através de uma mola protetora ancorada ao crânio usando dois parafusos de aço inoxidável e acrílico dental autocurador. Depois da recuperação os animais são alojados dentro de gaiolas individuais dentro do ambiente de amostragem de sangue automatizada. A extremidade da mola protetora é fixada a uma conexão mecânica que possibilita ao animal máxima liberdade de movimento. As cânulas são jateadas diariamente com solução salina heparinizada para manter a desobstrução.

Tratamento: Às 09:00 no dia 2 do estudo os ratos receberão uma injeção i.v. de CP-GHRH-LHD ou controle de somente veículo.

Amostragem: o sistema de amostragem de sangue automatizada (ABS) foi previamente descrito (Clark *et al.*, 1986; Windle *et al.*, 1997). Três a quatro dias depois da cirurgia a cânula da veia jugular de cada animal será conectada ao sistema de amostragem de sangue automatizada. Às 07:00 no dia 6 a amostragem se iniciará. As amostras de sangue serão coletadas em intervalos de 10 minutos usando o sistema automatizado por um período de 24 horas. Um total de 144 amostras de sangue serão coletadas para que cada contenha não mais de 38 µl de sangue total.

Resultados

Os níveis de IGF-1 foram medidos usando um kit ELISA de IGF-1. A figura 5 ilustra uma redução estatisticamente significativa nos níveis de IGF-1 nos ratos tratados com fusão em comparação com o controle de somente veículo com um valor P de teste-t = 0,0416 depois de somente cinco dias.

Exemplo 33 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis de IGF-1 de rato *in vivo*

Objetivos:

Este estudo é designado para investigar o curso de tempo da atividade para fusão CP-GHRH-LHD identificando o retardo de tempo entre a administração e o efeito inicial do composto nos níveis de IGF-1.

Materiais e Métodos:

Animais: ratos Sprague-Dawley adultos machos mantidos sob condições de alojamento de rotina com com luzes ligadas às 05:00 horas (14 horas de luz:10 horas de escuridão), comida e água disponíveis à vontade e habituados às condições de alojamento por no mínimo 1 semana antes da cirurgia.

Cirurgia: no dia 1 do estudo os ratos (260-280g) serão anestesiados com uma combinação de Hypnorm e diazepam. A veia jugular direita é em seguida exposta e uma cânula de politeno de ponta silástica (i.d. 0,50 mm, o.d. 0,93 mm) (Portex, Reino Unido) é inserida dentro do vaso até se situar próxima à entrada da direita. As cânulas serão preenchidas com solução salina isotônica heparinizada (10 UI/ml). A extremidade livre das cânulas serão exteriorizadas através de uma incisão no couro cabeludo e passadas através de uma mola ancorada ao crânio usando parafusos de aço inoxidável e cimento dental. Depois da recuperação os animais serão alojados dentro de gaiolas individuais no ambiente sistema de amostragem de sangue automatizada. A mola será fixada a uma conexão que possibilita ao animal máxima liberdade de movimento. As cânulas serão jateadas diariamente com solução salina heparinizada para manter a desobstrução.

Tratamento: às 10:00h no dia 5 do estudo os ratos receberão

uma injeção i.v. da CP-GHRH-LHD ou veículo (solução salina estéril).

Amostragem de sangue: depois de jatear as cânulas será colhida uma única amostra de sangue manual (100 µl) de cada rato às 09:30h. As amostras serão colhidas do dia 5 ao dia 18 do experimento (ou até as cânulas serem bloqueadas). Plasma das amostras de sangue será armazenado a -20C para análise posterior do teor de IGF-1 por kit ELISA.

Resultados

A figura 6 ilustra uma redução estatisticamente significativa nos níveis de IGF-1 nos ratos tratados com fusão em comparação com o controle de somente veículo a partir do quarto dia depois do tratamento.

Exemplo 34 - Atividade de CP-GHRH-LHD sobre os níveis do hormônio do crescimento de rato *in vivo*

Objetivos

Avaliar o impacto de administração i.v. de fusão CP-GHRH-LHD sobre os níveis do hormônio do crescimento em ratos cinco dias depois de tratamento em comparação com controles tratados com veículo somente e de infusão de Octreotida.

Materiais e Métodos

Animais: ratos Sprague-Dawley adultos machos mantidos sob condições de alojamento de rotina com com luzes ligadas às 05:00 horas (14 horas de luz:10 horas de escuridão), comida e água disponíveis à vontade e habituados às condições de alojamento por no mínimo 1 semana antes da cirurgia.

Cirurgia: no dia 1 do estudo os ratos (200 a 250 g) serão anestesiados com uma combinação de Hypnorm (0,32 mg/kg de fentanil citrato e 10 mg/kg de fluanisona, i.m.) e diazepam (2,6 mg/kg i.p.). A veia jugular direita é exposta e uma cânula de politeno de ponta silástica (i.d. 0,50 mm, o.d. 0,93 mm) (Portex, Reino Unido) é inserida dentro do vaso até se situar próxima à entrada do átrio direito. As cânulas serão preenchidas com solução salina isotônica heparinizada (10 UI/ml). A extremidade livre das cânulas serão exteriorizadas através de uma incisão no couro cabeludo e em seguida passadas através de uma mola protetora ancorada ao crânio usando dois

parafusos de aço inoxidável e acrílico dental auto curador. Depois da recuperação os animais são alojados dentro de gaiolas individuais dentro do ambiente de amostragem de sangue automatizada. A extremidade da mola protetora é fixada a uma conexão mecânica que possibilita ao animal máxima liberdade de movimento. As cânulas são jateadas diariamente com solução salina heparinizada para manter a desobstrução.

Tratamento: às 09:00 no dia 2 do estudo os ratos receberão uma injeção i.v. do composto ativo de Syntaxin ou veículo. Uma infusão de 12 horas de somatostatina (ou um análogo) se iniciará 6 horas depois do início da amostragem (administrada através de uma das linhas de cânulas duplas) e continuará por 12 horas somente. [Este timing da infusão deve ser um excelente controle do ensaio de GH uma vez que deve-se ver secreção na linha basal em seguida completa inibição e em seguida rápida recuperação / rebote]

Amostragem: o sistema de amostragem de sangue automatizada (ABS) foi previamente descrito (Clark *et al.*, 1986; Windle *et al.*, 1997). Três a quatro dias depois da cirurgia a cânula da veia jugular de cada animal será conectada ao sistema de amostragem de sangue automatizada. Às 07:00 no dia 6 a amostragem se iniciará. As amostras de sangue serão coletadas em intervalos de 10 minutos usando o sistema automatizado por um período de 24 horas. Um total de 144 amostras de sangue serão coletadas para cada conterá não mais de 38 µl de sangue total.

Resultados

Os níveis do hormônio do crescimento foram medidos usando um ensaio de RIA. A figura 7a ilustra os animais tratados com veículo os quais apresentam liberação de hormônio do crescimento pulsátil típica, a figura 7b ilustra a completa ablação da liberação de hormônio do crescimento pulsátil depois do tratamento com quimera GHRH-LHD e a figura 7c mostra o bloqueio da liberação de hormônio do crescimento pulsátil e subsequente recuperação quando a infusão de Octreotida é interrompida.

REIVINDICAÇÕES

1. Polipeptídeo para o uso na supressão de secreção de uma célula tumoral neuroendócrina compreendendo:

a. uma protease não citotóxica, cuja protease é capaz de clivar uma proteína do aparelho de fusão exocítica em uma célula tumoral neuroendócrina, em que a protease não citotóxica compreende uma endopeptidase de neurotoxina clostridial ou uma protease de IgA;

b. uma Porção de Direcionamento (TM) de peptídeo ou análogo da mesma que liga a um Sítio de Ligação sobre uma célula tumoral neuroendócrina, cujo Sítio de Ligação é capaz de sofrer endocitose para ser incorporado em um endossoma dentro da célula tumoral neuroendócrina, em que a TM de peptídeo compreende um peptídeo hormônio de liberação do hormônio do crescimento (GHRH); um peptídeo de somatostatina, um peptídeo de cortistatina; um peptídeo de grelina; um peptídeo de bombesina; um peptídeo de urotensina; um peptídeo do hormônio de concentração de melanina 1; um peptídeo KISS-1; um peptídeo do hormônio de liberação de gonadotropina (GnRH); e/ou um peptídeo de liberação de prolactina; e

c. um domínio de translocação de neurotoxina clostridial que transloca a protease de dentro do endossoma, através da membrana endossômica e para dentro do citosol da referida célula tumoral neuroendócrina;

em que o polipetídeo carece do domínio de ligação H_{cc} nativo de uma neurotoxina clostridial e não está apto a ligar aos terminais nervosos na junção neuromuscular.

2. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 1, em que a célula tumoral neuroendócrina é selecionada a partir do grupo compreendendo células derivadas de ou contribuindo para: tumores da pituitária; tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos não carcinoides; tumores carcinoides; e feocromocitomas.

3. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que a célula tumoral neuroendócrina é selecionada a partir do grupo compreendendo células derivadas de ou contribuindo para somatotrofinomas, insulinomas, gastrinomas, VIPomas, glucagonomas, prolactinomas, corticotrofi-

nomas, tirotrofinomas e feocromocitomas.

4. Polipeptídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 3, em que o TM se liga a um receptor selecionado a partir do grupo compreendendo: um receptor do hormônio de liberação do hormônio do crescimento (GHRH); um receptor de somatostatina (SST), um receptor de cortistatina (CST); um receptor de grelina; um receptor de bombesina; um receptor de urotensina; um receptor do hormônio de concentração de melanina 1; um receptor KiSS-1; um receptor do hormônio de liberação de gonadotropina (GnRH); e/ou um receptor de peptídeo de liberação de prolactina.

5. Polipeptídeo compreendendo:

a. uma protease não citotóxica, cuja protease é capaz de clivar uma proteína do aparelho de fusão exocítica em uma célula tumoral neuroendócrina;

b. uma Porção de Direcionamento (TM) que se liga a um Sítio de Ligação sobre uma célula tumoral neuroendócrina, cujo Sítio de Ligação é capaz de sofrer endocitose para ser incorporado em um endossoma dentro da célula tumoral neuroendócrina; e

c. um domínio de translocação que transloca a protease de dentro do endossoma, através da membrana endossômica e para dentro do citosol da referida célula tumoral neuroendócrina

em que o polipetídeo carece do domínio de ligação H_{cc} nativo de uma neurotoxina clostridial e não está apto a se ligar aos terminais nervosos na junção neuromuscular; e

em que o polipeptídeo compreende uma sequência de aminoácidos tendo no mínimo 90 a 92%, ou no mínimo 95 a 97%, ou no mínimo 98 a 99% de identidade de sequência com qualquer uma das SEQ ID NOS: 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 57, 58, 59. 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93 ou 94.

6. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 5, em que a célula tumoral neuroendócrina é selecionada entre o grupo consistindo em célu-

las derivadas de ou contribuindo para: tumores da pituitária, tumores neuroendócrinos gastroenteropancreáticos não carcinoides; tumores carcinoides; feocromocitomas, insulinomas, gastrinomas, VIPomas, glucagonomas, prolactinomas, somatotrofinomas, corticotrofinomas, tirotrofinomas e feocromocitomas.

7. Polipeptídeo de acordo com a reivindicação 5 ou 6, em que a porção de direcionamento liga a um receptor selecionado entre o grupo compreendendo: um receptor do hormônio de liberação do hormônio do crescimento (GHRH); um receptor de somatostatina (SST), um receptor de cortistatina (CST); um receptor de grelina; um receptor de bombesina (por exemplo, BRS-1, BRS-2, ou BRS-3); um receptor de urotensina (por exemplo, um receptor de urotensina II); um receptor do hormônio de concentração de melanina 1; um receptor KiSS-1; um receptor do hormônio de liberação de gonadotropina (GnRH); e/ou um receptor de peptídeo de liberação de prolactina.

8. Ácido nucléico codificando um polipeptídeo, como definido em qualquer uma das reivindicações 5 a 7.

9. Método para tratar acromegalia em um paciente compreendendo administrar ao paciente uma quantidade eficaz de um polipeptídeo, como definido em qualquer uma das reivindicações 5 a 7, ou um ácido nucleico, como definido na reivindicação 8.

10. Polipetídeo de acordo com qualquer uma das reivindicações 5 a 7, ou ácido nucleico de acordo com a reivindicação 8 para uso em um método, como definido na reivindicação 9, para tratar acromegalia.

FIG. 1

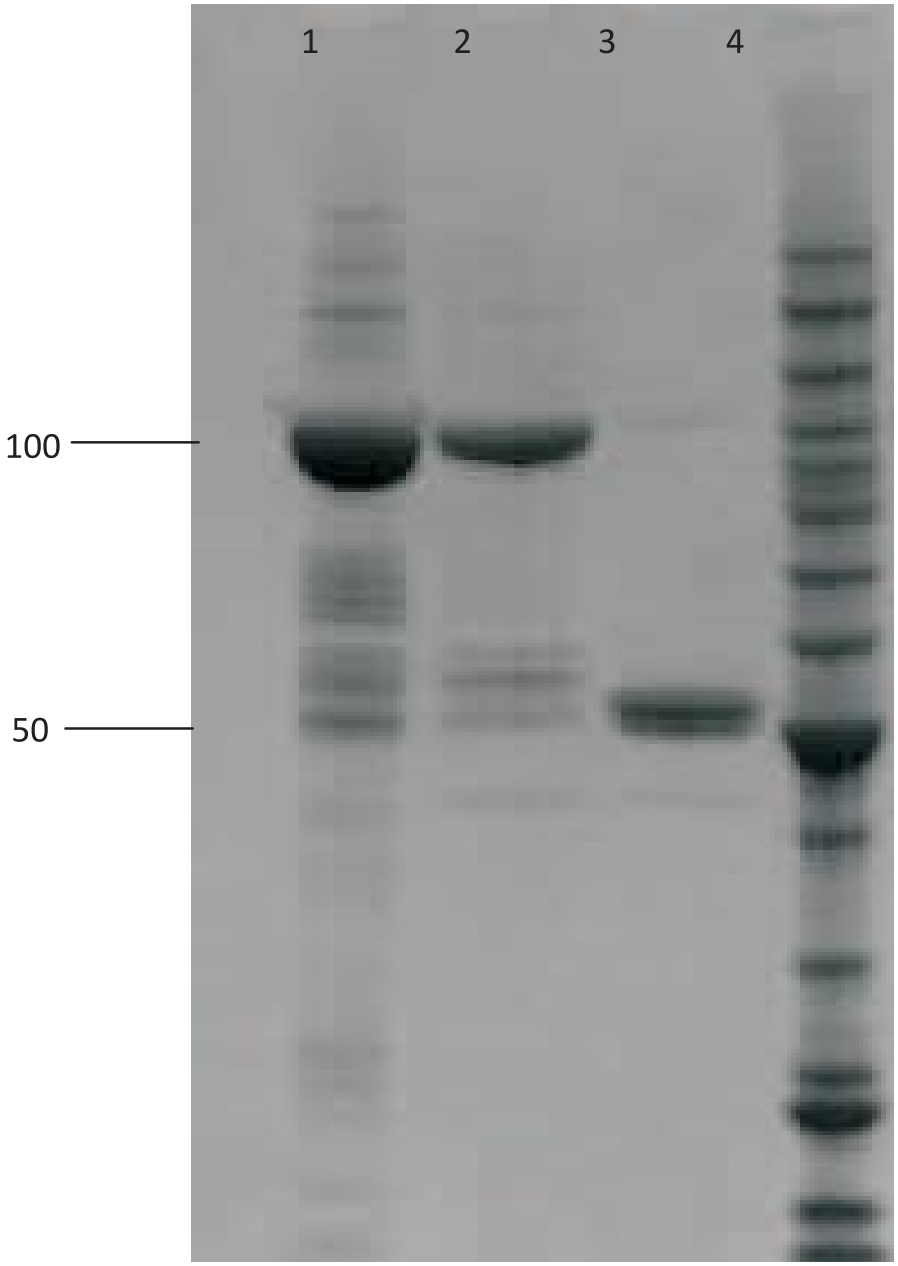


FIG. 2

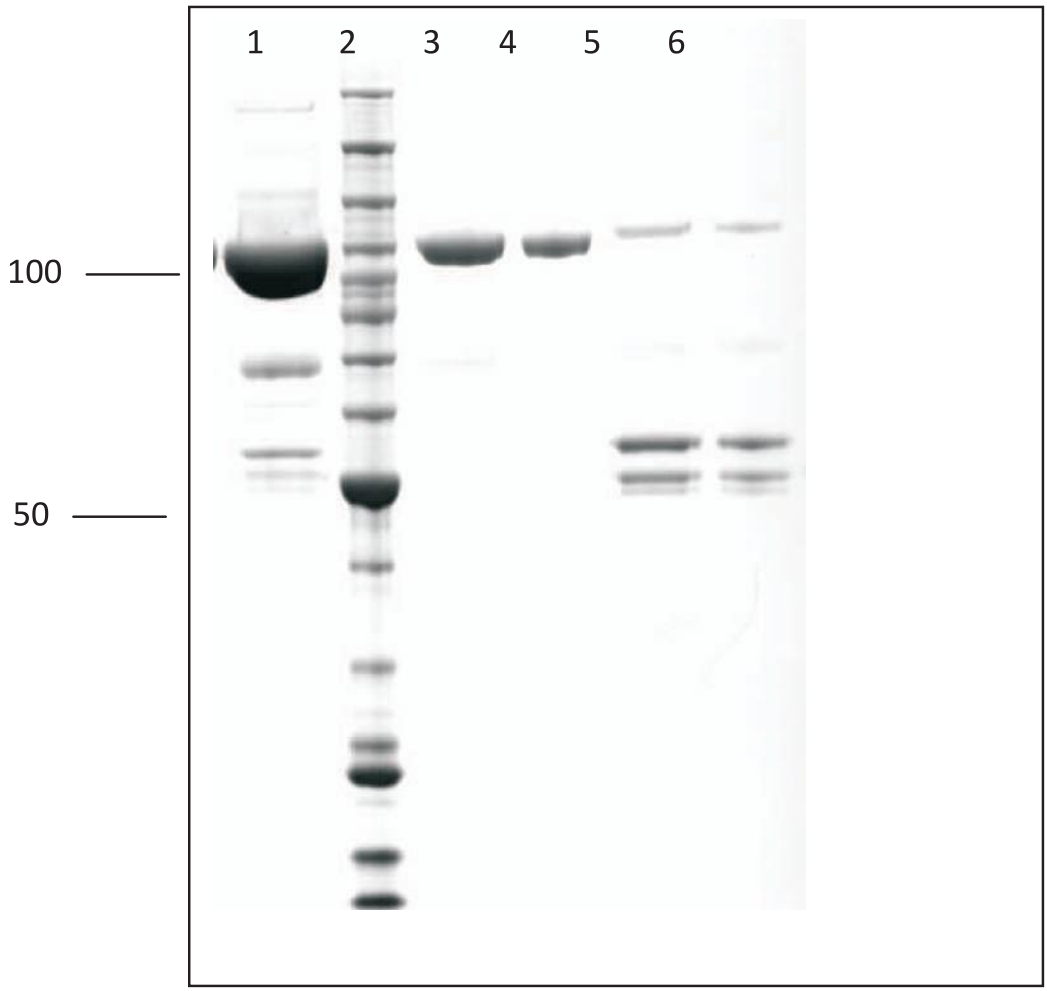


FIG. 3a

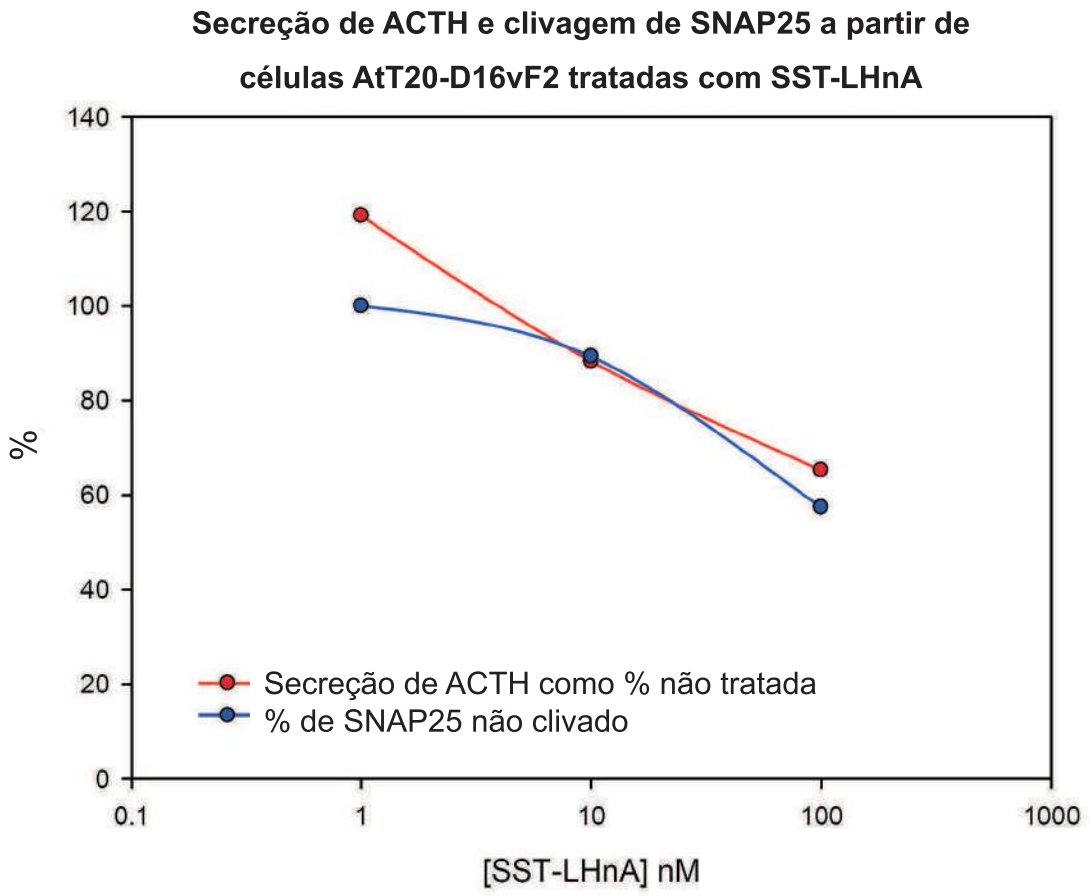

Secreção de ACTH e clivagem de SNAP25 a partir de células AtT20-D16vF2 tratadas com SST-LHnA
%
140
120
100
80
60
40
20
0
0.1
1
10
100
1000
[SST-LHnA] nM
Secreção de ACTH como % não tratada
% de SNAP25 não clivado

FIG. 3b

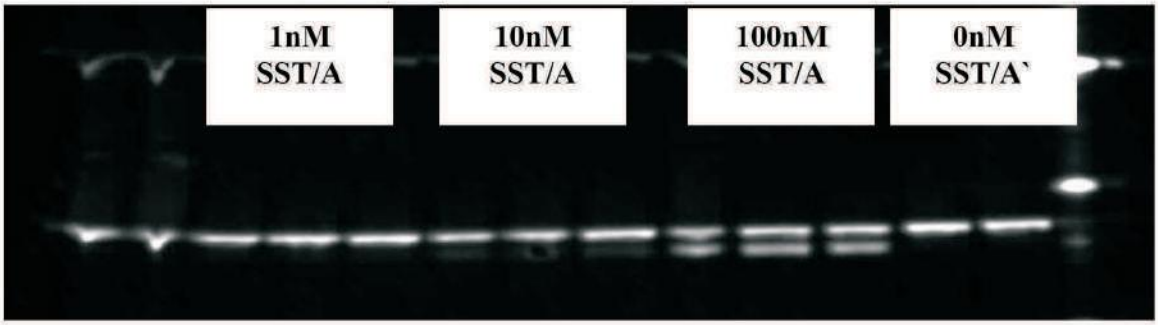

1nM SST/A
10nM SST/A
100nM SST/A
0nM SST/A`

FIG. 4

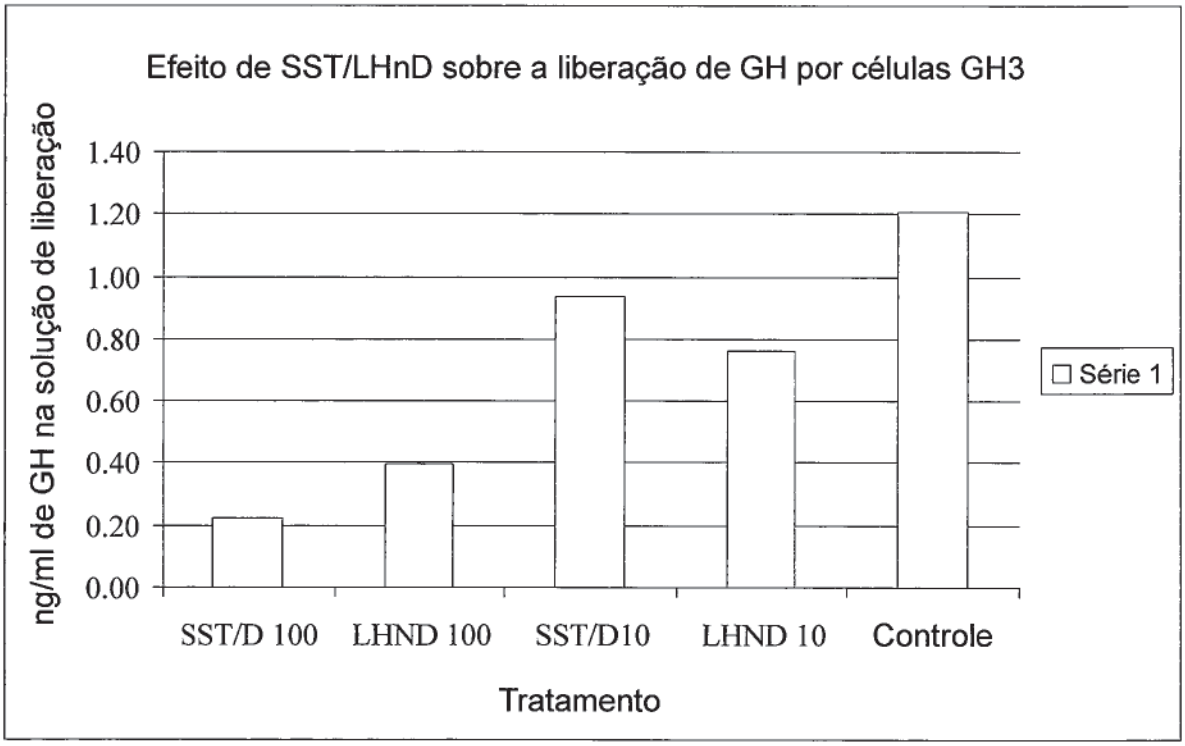

Efeito de SST/LHnD sobre a liberação de GH por células GH3
ng/ml de GH na solução de liberação
1.40
1.20
1.00
0.80
0.60
0.40
0.20
0.00
SST/D 100
LHND 100
SST/D10
LHND 10
Controle
Tratamento
Série 1

FIG. 5

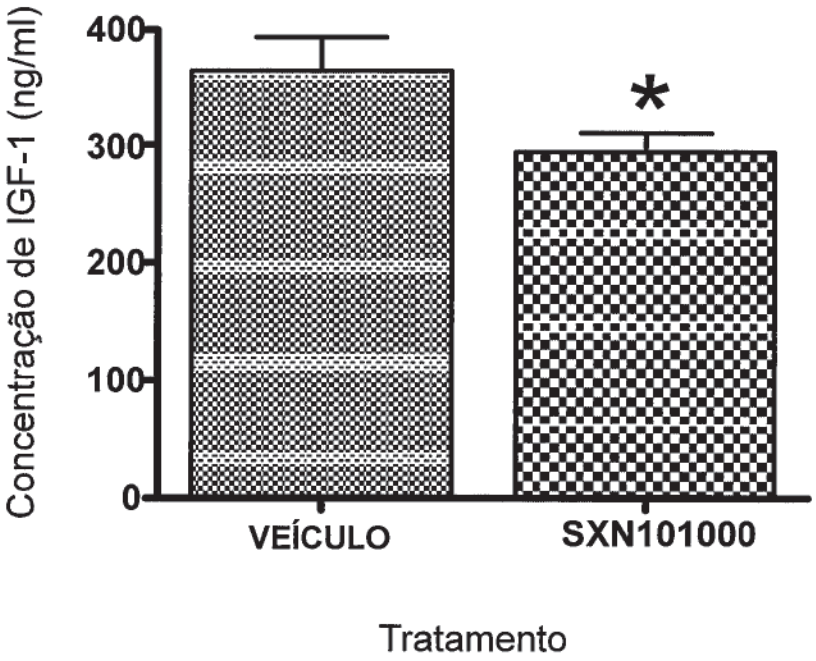
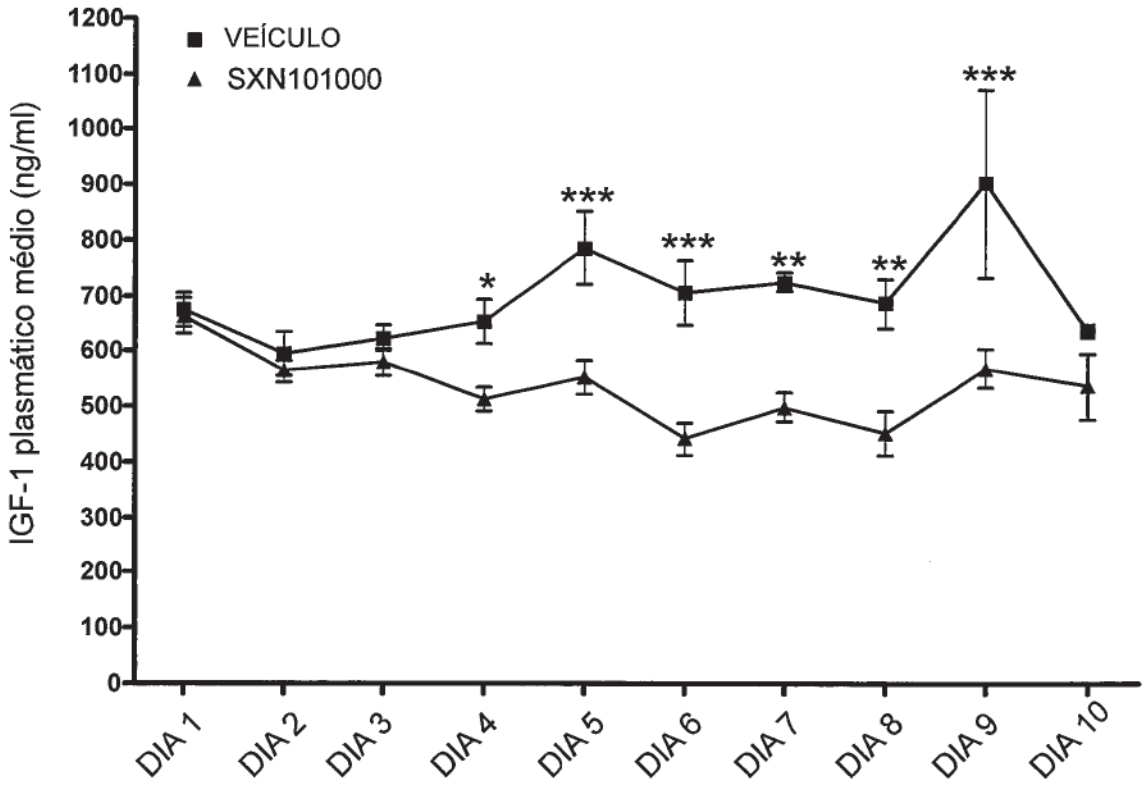

Concentração de IGF-1 (ng/ml)
400
300
200
100
0
*
VEÍCULO
SXN101000
Tratamento

FIG. 6


VEÍCULO
SXN101000
IGF-1 plasmático médio (ng/ml)
1200
1100
1000
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
*
***
***
**
**
***
DIA 1
DIA 2
DIA 3
DIA 4
DIA 5
DIA 6
DIA 7
DIA 8
DIA 9
DIA 10

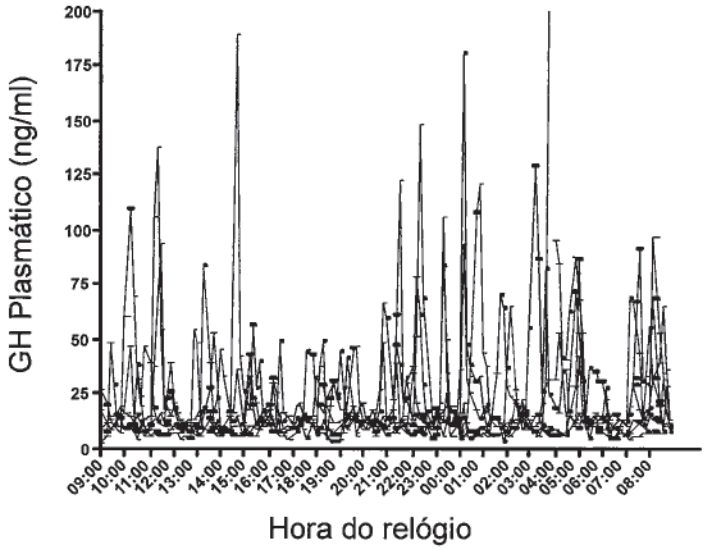


FIG. 7a

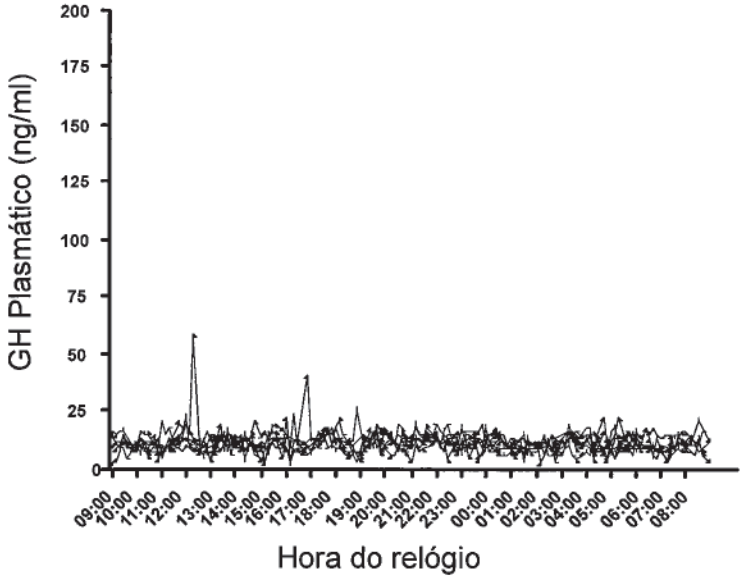


FIG. 7b

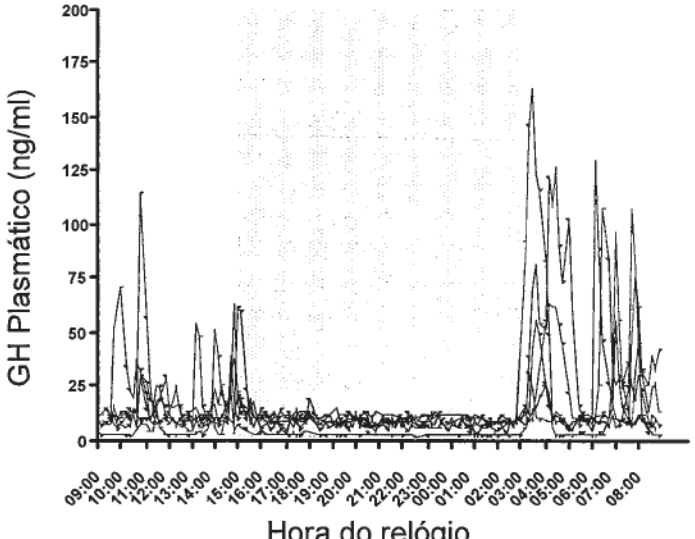


FIG. 7c

RESUMO

Patente de Invenção: **"POLIPEPTÍDEO, ÁCIDO NUCLÉICO E USO DO REFERIDO POLIPEPTÍDEO".**

A presente invenção refere-se a um método para supressão de doença neuroendócrina. A terapia emprega uso de uma protease não citotóxica, a qual é direcionada para uma célula tumoral neuroendócrina, preferencialmente através de um receptor de somatostatina ou cortistatina, um receptor de GHRH, um receptor de grelina, um receptor de bombesina, um receptor de urotensina, um receptor do hormônio de concentração de melanina 1; um receptor KiSS-1 ou um receptor de peptídeo de liberação de prolactina. Quando liberada deste modo, a protease é internalizada e inibe secreção da referida célula tumoral. A presente invenção também se refere a polipeptídeos e ácidos nucleicos para aplicação nos referidos métodos.