



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 108884137 B

(45) 授权公告日 2022.04.05

(21) 申请号 201780022355.2

C07K 7/06 (2006.01)

(22) 申请日 2017.02.03

C07K 7/08 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 108884137 A

(56) 对比文件

WO 2015019318 A1, 2015.02.12

(43) 申请公布日 2018.11.23

CN 1329493 A, 2002.01.02

(30) 优先权数据

WO 2013036208 A1, 2013.03.14

62/291,003 2016.02.04 US

WO 199811907 A1, 1998.03.26

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

Shi Qiu et al.. "A small peptide derived from p53 linker region can resume the apoptotic activity of p53 by sequestering iASPP with p53". 《Cancer Letters》. 2015, 第356卷第910-917页.

2018.10.08

Changfen Li et al.. "An All-D Amino Acid Peptide Model of R1(IV) 531-543 from Type IV Collagen Binds the  $\alpha 3 \beta 1$  Integrin and Mediates Tumor Cell Adhesion, Spreading, and Motility". 《Biochemistry》. 1997, 第36卷(第49期), 第15404-15410页.

(86) PCT国际申请的申请数据

许朝莹 等. "残基突变对P53-DNA结合域肽段构象影响的分子动力学模拟". 《物理化学学报》. 2012, 第28卷(第7期), 第1665-1675页.

PCT/IL2017/050132 2017.02.03

审查员 吴志琳

(87) PCT国际申请的公布数据

权利要求书1页 说明书33页  
序列表97页 附图17页

W02017/134671 EN 2017.08.10

(73) 专利权人 耶达研究及发展有限公司

地址 以色列.雷霍沃特.邮箱95号

(72) 发明人 V.洛特尔 M.奥仁 P.塔尔

S.艾真伯格 A.本-施蒙

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

72001

代理人 任晓华 罗文锋

(51) Int.Cl.

C07K 14/47 (2006.01)

权利要求书1页 说明书33页

A61K 38/00 (2006.01)

序列表97页 附图17页

(54) 发明名称

肽及其在治疗与突变型p53相关的疾病、病症或病况中的用途

(57) 摘要

本发明提供了一种分离肽。所述肽包含在空间和构型上排列为允许所述肽与p53的DNA结合B结构域(DBD)通过DBD的至少一个残基相互作用的氨基酸序列,其中通过所述至少一个残基, pCAP 250 (SEQ ID NO:1)结合所述DBD,其中所述肽至少部分地将突变型p53蛋白再活化,条件是CN 所述肽不是SEQ ID NO:9-382。

1. 一种分离肽,其选自SEQ ID NOs: 426、427、429、430、431和446,其中所述肽与p53的DNA结合结构域DBD通过所述DBD的至少一个残基相互作用,其中所述肽至少部分地将突变型p53蛋白再活化,且其中所述相互作用经由所述DBD的螺旋-2和L1。
2. 权利要求1的分离肽,其中通过NMR测定的,所述相互作用影响所述DBD的螺旋-2和/或L1的结构稳定性。
3. 权利要求1的分离肽,其中所述至少一个残基选自L1的H115、G117和所述p53的Y126和V274和G279和R280。
4. 权利要求1的分离肽,其中所述相互作用是通过所述DBD的至少一个氨基酸、通过所述DBD的至少两个氨基酸、通过所述DBD的至少三个氨基酸或通过所述DBD的至少四个氨基酸。
5. 权利要求1-4中任一项的分离肽,其进一步包含细胞穿透部分。
6. 权利要求1的分离肽,其中所述分离肽如SEQ ID NO: 429所示。
7. 权利要求1-4中任一项的分离肽在制备用于治疗与突变型p53相关的癌症的药物中的用途。
8. 根据权利要求7的用途,其中所述癌症选自乳腺癌、结肠癌、卵巢癌和肺癌。
9. 根据权利要求7的用途,其中经由选自连续输注和皮下施用的施用途径向有此需要的对象施用治疗有效量的所述分离肽。
10. 根据权利要求9的用途,其中所述治疗有效量为每天0.01-0.3 mg/kg。
11. 根据权利要求7的用途,其中所述治疗进一步包括施用治疗有效量的基于铂的化学疗法。
12. 根据权利要求11的用途,其中所述基于铂的化学疗法包括顺铂。

## 肽及其在治疗与突变型p53相关的疾病、病症或病况中的用途

[0001] 发明领域和背景

[0002] 本发明，在其一些实施方案中，涉及肽及其在治疗与突变型p53相关的疾病、病症或病况中的用途。

[0003] 癌症是发达国家中的主要死亡原因，且随着人口的平均年龄持续上升，诊断病例数和经济影响也随之上升。癌症不是单一疾病，而是特征在于异常细胞的失控生长和扩散的一组超过200种疾病。癌症是高度异质性的疾病，并且甚至在具有相同类型和等级的癌症的患者之间，也具有肿瘤细胞表面标记物的表达和分布的主要分子差异。此外，随着癌症进展，细胞突变倾向于积累，进一步增加肿瘤异质性。大多数肿瘤细胞表现出基因组不稳定性，以及癌基因的增加表达和肿瘤抑制基因的失活。

[0004] p53基因被认为是最重要的肿瘤抑制基因，其充当针对癌症发展的主要屏障。p53蛋白响应于各种类型的细胞应激，且触发细胞周期停滞、凋亡或衰老。这通过携带p53 DNA结合基序的特异性靶标基因的转录反式激活而实现。得到广泛赞同的是，p53途径在几乎所有人类癌症中受损。p53的突变被视为恶性转化过程中的关键步骤，且超过50%的癌症病例在其p53基因中携带突变。这些突变中的大多数是靶向p53的DNA-结合核心结构域(DBD)的错义点突变，从而终止p53与其靶标位点的特异性DNA结合。这些突变阻止p53依赖性转录，且因此阻止p53介导的肿瘤抑制。不同类型的人肿瘤中的p53突变的异常高频率使得p53在参与肿瘤发育的基因之中是独特的，使得突变的p53 (Mut-p53) 成为用于新型癌症疗法的有吸引力的靶标。

[0005] 结构研究已经揭示，p53的DBD中的肿瘤来源的错义突变产生共同效果：DBD折叠在生理温度下的不稳定 (Joerger, A.C., M.D. Allen和A.R. Fersht, *Crystal structure of a superstable mutant of human p53 core domain. Insights into the mechanism of rescuing oncogenic mutations.* J Biol Chem, 2004. 279(2) : p. 1291-6)。这种不稳定可以是可逆的，因为一些突变型可以在降低的温度下恢复至野生型构象且结合DNA。因此，p53的大多数突变使p53蛋白折叠不稳定，导致在生理温度下的部分变性。

[0006] 突变型p53蛋白在肿瘤细胞中以高水平积累，主要由于它们无法上调p53的自身破坏物Mdm2的表达。此外，许多活化p53的应激信号（如缺氧、基因组不稳定和癌基因表达）在癌细胞中得到组成型诱导。因此，预期Mut-p53的再活化发挥主要的抗肿瘤作用。此外，已经在小鼠模型中显示，p53功能的恢复在正常组织中被良好耐受，且不产生可见的毒性作用 (Ventura, A., 等人, *Restoration of p53 function leads to tumour regression in vivo.* Nature, 2007. 445(7128) : p. 661-5)。

[0007] 结构研究显示，错误折叠的程度在突变型间不同；然而，没有明确的替代折叠，反而有部分变性。这表明，逆转p53突变对折叠影响的“小分子”方法可适用于宽范围的突变型形式。来自结构研究的另一个重要预测是，根据质量作用定律，预期结合至所述蛋白的正确折叠部分的配体将使得平衡朝向天然折叠移动。

[0008] p53构象领域中尝试了一些校正方法。Friedler和同事提供了构象稳定肽的原理论证 (Friedler, A., 等人, *A peptide that binds and stabilizes p53 core domain:*

*chaperone strategy for rescue of oncogenic mutants.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002. 99(2) : p. 937-42)。基于p53 DBD和ASPP之间的复合物的晶体结构设计了九残基肽CDB3 (Samuels-Lev, Y., 等人, ASPP proteins specifically stimulate the apoptotic function of p53. Mol. Cell, 2001. 8(4) : p. 781-94)。该肽显示结合Mut-p53且充当分子伴侣,将平衡朝向野生型构象移动,如对PAb1620增加的反应性所示。然而, CDB3的生物效果(Issaeva, N., 等人, Rescue of mutants of the tumor suppressor p53 in cancer cells by a designed peptide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2003. 100(23) : p. 13303-7)仅仅是部分的,因为Mut-p53/CDB3复合物的构象处于野生型和突变型之间的中间状态。

[0009] 已经使用基于蛋白或基于细胞的测定法鉴定出靶向Mut-p53的小分子化合物(Peng, Y., 等人, *Rescue of mutant p53 transcription function by ellipticine.* Oncogene, 2003. 22(29) : p. 4478-87)。通过筛选保护分离的p53 DBD免于热变性的分子, 鉴定了CP-31398, 如通过蛋白加热后PAb1620反应性的维持所评价的(Foster, B.A., 等人, *Pharmacological rescue of mutant p53 conformation and function.* Science, 1999. 286(5449) : p. 2507-10)。CP-31398的作用机制仍不清楚。NMR研究未能检测到CP-31398与p53 DBD的任何结合(Rippin, T.M., 等人, *Characterization of the p53-rescue drug CP-31398 in vitro and in living cells.* Oncogene, 2002. 21(14) : p. 2119-29)。CP-31398以p53依赖和非依赖的方式影响基因表达且诱导细胞死亡。因此,看来CP-3138具有p53以外的其他细胞靶标,这可能是其细胞毒性的原因。

[0010] 通过使用基于细胞的筛选测定法,发现了在活癌细胞中挽救p53功能的另外两种小分子PRIMA-1和MIRA-1。PRIMA-1和MIRA-1具有类似的活性概况(Bykov, V.J., 等人, *Reactivation of mutant p53 and induction of apoptosis in human tumor cells by maleimide analogs.* J Biol Chem, 2005. 280(34) : p. 30384-91),但结构上无关。PRIMA-1是一种前体药物,其转换为结合突变型p53,但也结合其它分子的活性化合物(Cell Death Dis. 2015 Jun 18;6:e1794. doi: 10.1038/cddis.2015.143.),并且它的一些作用似乎独立于突变型p53状态(BMC Cancer. 2015 Oct 13;15:684. doi: 10.1186/s12885-015-1667-1.)。

[0011] 本发明的一些实施方案的发明人在先前已经描述了噬菌体展示用于选择mutp53-再活化肽的应用(WO2015/019318)。噬菌体肽展示文库具有比化学文库高得多的复杂度。选择过程是基于肽与固定化靶标的结合,洗脱并扩增,并最终通过测序鉴定,从而能够在短时间内筛选大量的分子。将不同的选择策略组合以选择来自不同肽文库的先导物(leads),并且深度测序所选的集合。显示先导肽在体外和活细胞中赋予mutp53野生型p53样活性,并且导致在几种异种移植模型中携带mutp53的肿瘤的消退。

[0012] 发明概述

[0013] 根据本发明的一些实施方案的一个方面,提供了分离肽,其包含在空间和构型上排列为允许所述肽与p53的DNA结合结构域(DBD)通过DBD的至少一个残基相互作用的氨基酸序列,其中通过所述至少一个残基,pCAP 250 (SEQ ID NO: 1)结合所述DBD,其中所述肽至少部分地将突变型p53蛋白再活化,条件是所述肽不是SEQ ID NO: 59-382。

[0014] 根据本发明的一些实施方案,所述相互作用是经由DBD的螺旋-2和L1。

[0015] 根据本发明的一些实施方案，所述相互作用影响DBD的螺旋-2和/或L1的结构稳定性，如通过NMR测定的。

[0016] 根据本发明的一些实施方案，所述至少一个残基选自L1的H115、G117和p53的Y126和V274和G279和R280。

[0017] 根据本发明的一些实施方案，所述相互作用是通过所述氨基酸序列的至少一个氨基酸。

[0018] 根据本发明的一些实施方案，所述相互作用是通过所述氨基酸序列的至少两个氨基酸。

[0019] 根据本发明的一些实施方案，所述相互作用是通过所述氨基酸序列的至少三个氨基酸。

[0020] 根据本发明的一些实施方案，所述相互作用是通过所述氨基酸序列的至少四个氨基酸。

[0021] 根据本发明的一些实施方案，所述肽包含以下氨基酸序列：

[0022]  $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6$  (SEQ ID NO: 53)

[0023] 其中，

[0024]  $X_1$ 和 $X_5$ 是带正电荷的氨基酸；

[0025]  $X_2$ 选自Ser、Thr、Asn、Gln、Pro、Ala和Gly；

[0026]  $X_3$ 是任何氨基酸；

[0027]  $X_4$ 和 $X_6$ 选自 $\alpha$ 甲基氨基酸和 $\beta$ 断裂子氨基酸。

[0028] 根据本发明的一些实施方案，所述肽包含以下氨基酸序列：

[0029]  $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6$  (SEQ ID NO: 54)

[0030] 其中，

[0031]  $X_1$ 和 $X_5$ 选自His、Arg和Lys；

[0032]  $X_2$ 选自Ser、Thr、Asn、Gln、Pro、Ala和Gly；

[0033]  $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_6$ 是任何氨基酸。

[0034] 根据本发明的一些实施方案，所述带正电荷的氨基酸选自His、二氨基丁酸(Dab)、Arg和Lys。

[0035] 根据本发明的一些实施方案， $X_3$ 是D-氨基酸。

[0036] 根据本发明的一些实施方案， $X_3$ 是磷酸化的氨基酸。

[0037] 根据本发明的一些实施方案， $X_3$ 是不可磷酸化的氨基酸。

[0038] 根据本发明的一些实施方案， $X_3$ 是非氢键结合的氨基酸。

[0039] 根据本发明的一些实施方案， $X_3$ 选自极性不带电氨基酸和疏水氨基酸。

[0040] 根据本发明的一些实施方案， $X_2$ 是Ser。

[0041] 根据本发明的一些实施方案， $X_4$ 是 $\alpha$ 甲基氨基酸且 $X_6$ 是丙氨酸。

[0042] 根据本发明的一些实施方案，所述分离肽具有氨基酸序列HSAPHP (SEQ ID NO: 49) 或HSEPHP (SEQ ID NO: 50)。

[0043] 根据本发明的一些实施方案，所述分离肽包含连接至所述氨基酸序列C-端的至少一个另外的氨基酸( $X_7$ )。

[0044] 根据本发明的一些实施方案，所述至少一个另外的氨基酸是带负电荷的氨基酸。

- [0045] 根据本发明的一些实施方案，所述至少一个另外的氨基酸选自Asp、Glu、Gly、Ala和Ser。
- [0046] 根据本发明的一些实施方案，所述至少一个另外的氨基酸包含两个另外的氨基酸( $X_7-X_8$ )且其中 $X_8$ 选自His、Dab、Asp和Glu。
- [0047] 根据本发明的一些实施方案，所述分离肽包含连接至所述氨基酸序列N-端的至少一个另外的氨基酸。
- [0048] 根据本发明的一些实施方案，所述分离肽包含连接至所述氨基酸序列N-端的至少两个另外的氨基酸。
- [0049] 根据本发明的一些实施方案，所述连接至所述氨基酸序列N-端的至少一个另外的氨基酸是Arg。
- [0050] 根据本发明的一些实施方案，所述分离肽进一步包含细胞穿透部分。
- [0051] 根据本发明的一些实施方案，所述细胞穿透部分连接至所述肽的N-端。
- [0052] 根据本发明的一些实施方案，所述细胞穿透部分选自脂肪酸部分、蛋白质部分及其组合。
- [0053] 根据本发明的一些实施方案，所述脂肪酸部分包含肉豆蔻酰脂肪酸且所述蛋白质部分包含至少一个带正电荷的氨基酸。
- [0054] 根据本发明的一些实施方案，所述分离肽长度不长于20个氨基酸。
- [0055] 根据本发明的一些实施方案，所述肽至少部分地将突变型p53蛋白的构象改变为野生型(WT) p53蛋白的构象。
- [0056] 根据本发明的一些实施方案，所述肽至少部分地改变突变型p53蛋白的构象，使得所述突变型p53蛋白被针对野生型p53蛋白的单克隆抗体识别。
- [0057] 根据本发明的一些实施方案，所述突变型p53蛋白不被针对野生型p53蛋白的单克隆抗体识别。
- [0058] 根据本发明的一些实施方案，所述突变型p53蛋白在结合所述肽后，被针对野生型p53蛋白的单克隆抗体识别。
- [0059] 根据本发明的一些实施方案，所述单克隆抗体是Ab1620。
- [0060] 根据本发明的一些实施方案，所述肽至少部分地将突变型p53蛋白的活性恢复至野生型p53蛋白的活性。
- [0061] 根据本发明的一些实施方案，所述活性是降低表达突变型p53蛋白的细胞的生存力。
- [0062] 根据本发明的一些实施方案，所述活性是促进表达突变型p53蛋白的细胞的凋亡。
- [0063] 根据本发明的一些实施方案，所述活性是结合表达突变型p53蛋白的细胞中的p53共有DNA结合元件。
- [0064] 根据本发明的一些实施方案，所述共有DNA结合元件包含SEQ ID NO: 55和56所示的核酸序列。
- [0065] 根据本发明的一些实施方案，所述结合导致内源性p53靶标基因的至少部分活化。
- [0066] 根据本发明的一些实施方案，所述内源性靶标基因选自p21、MDM2和PUMA。
- [0067] 根据本发明的一些实施方案，所述突变型p53蛋白与野生型p53蛋白的构象不同。
- [0068] 根据本发明的一些实施方案，所述分离肽如SEQ ID NO: 429或448所示。

[0069] 根据本发明的一些实施方案,所述分离肽如SEQ ID NO: 429、448、446、449或462所示。

[0070] 根据本发明的一些实施方案,所述分离肽选自SEQ ID NO: 8和412-464。

[0071] 根据本发明的一些实施方案,所述分离肽不是SEQ ID NO: 59-382中所示的任何肽。

[0072] 根据本发明的一些实施方案的一个方面,提供了治疗与突变型p53蛋白相关的疾病、病症或病况的方法,其包括向有此需要的对象施用治疗有效量的如本文描述的分离肽,从而治疗所述疾病、病症或病况。

[0073] 根据本发明的一些实施方案,所述方法进一步包括向所述对象施用治疗有效量的基于铂的化学疗法。

[0074] 根据本发明的一些实施方案的一个方面,提供了治疗与突变型p53蛋白相关的疾病、病症或病况的方法,其包括向有此需要的对象施用治疗有效量的基于铂的化学疗法和包含氨基酸序列的分离肽,所述氨基酸序列具有的空间和构型允许所述肽与p53的DNA结合结构域(DBD)以如pCAP 250 (SEQ ID NO: 1)结合DBD的相同方式进行结合,其中所述肽至少部分地将突变型p53再活化,从而治疗所述疾病、病症或病况。

[0075] 根据本发明的一些实施方案的一个方面,提供了治疗与突变型p53蛋白相关的疾病、病症或病况的方法,其包括向有此需要的对象施用治疗有效量的包含氨基酸序列的分离肽,所述氨基酸序列具有的空间和构型允许所述肽与p53的DNA结合结构域(DBD)以如pCAP 250 (SEQ ID NO: 1)结合DBD的相同方式进行结合,其中所述肽至少部分地将突变型p53再活化,且其中所述治疗有效量为每天0.01-0.3 mg/kg,从而治疗所述疾病、病症或病况。

[0076] 根据本发明的一些实施方案,所述肽是如本文所述的肽。

[0077] 根据本发明的一些实施方案,所述肽是pCAP 250 (SEQ ID NO: 1)。

[0078] 根据本发明的一些实施方案,所述施用包括皮下施用。

[0079] 根据本发明的一些实施方案,所述施用包括连续输注。

[0080] 根据本发明的一些实施方案,所述疾病是癌症。

[0081] 除非另有说明,本文使用的全部技术和/或科学术语具有如本发明所属领域中普通技术人员通常理解的相同含义。下文描述了示例性的方法和/或材料,但与本文所述的那些相似或等同的方法和材料可以被用于实践或测试本发明的实施方案。在冲突的情况下,以本专利说明书(包括定义)为准。另外,所述材料、方法和实例仅为说明性的且不意图是必然限制性的。

[0082] 附图简述

[0083] 本文参考附图,以仅示例的方式描述了本发明的一些实施方案。对于现在详细附图的具体参考,要强调的是所显示的具体内容是以示例的方式,且为了本发明的实施方案的说明性讨论的目的。对此,连同附图的说明将使得可以如何执行本发明的实施方案对于本领域技术人员显而易见。

[0084] 在图中:

[0085] 图1是单独或连同顺铂的pCAP-250 (SEQ ID NO: 1)在ES2卵巢癌细胞的生存力测定中的剂量应答。在96孔板中以3000个细胞/孔培养细胞。将pCAP-250的系列稀释物单独或

与1 $\mu$ g/ml的顺铂一起添加，并且将板在37°C另外温育48h。随后将培养基移除，并通过使用在甲醇/PBS (1:5, v/v) 中的结晶紫 (0.05%) 将细胞染色10分钟，随后使用PBS洗涤3次，来测定细胞生存力。向每孔添加10%乙酸，进行10分钟。在595 nm测定OD。使用1  $\mu$ g/ml处理的ES2细胞的生存力为39%。估计pCAP-250的IC50为3.2 $\mu$ M并且与顺铂组合的pCAP-250的IC50估计为1.9 $\mu$ M，表明两种化合物之间的协同效应。

[0086] 图2是显示pCAP-250 (SEQ ID NO: 1) 和不同衍生物 (SEQ ID NOs: 2-19) 在ES2卵巢癌细胞的生存力测定中，以及对于如MST测定的对p53 DBD的作用的柱状图。将表达内源p53<sup>S241F</sup>的ES2 Con细胞，和其中使用CRISPR/Cas9将p53稳定敲除以控制对mutp53的特异性的ES2 K0细胞 (ES2 p53K0)，以3000个细胞/孔培养在96孔板中。以8  $\mu$ g/ml的浓度添加指示的肽，并且将板在37°C另外温育48h。随后将培养基移除，并通过使用在甲醇/PBS (1:5, v/v) 中的结晶紫 (0.05%) 将细胞染色10分钟，随后使用PBS洗涤3次，来测定细胞生存力。向每孔添加10%乙酸，进行10分钟，在595 nm测定OD。特定肽对ES2 Con相比ES K0的作用的差异，指示肽对mutp53表达的特异性。其中氨基酸(例如丝氨酸和组氨酸)被取代为丙氨酸的数种肽衍生物显示出对ES2 Con细胞的减少的作用，指示这些氨基酸对肽功效的重要性。

[0087] 图3A-I和图3K是荧光标记的WTp53DBD (图3A) 或全长p53 (图3B) 与指示的肽 (SEQ ID NO: 1、4、9) 的结合的微量热泳 (MST) 分析的图。所述根据生产商的说明进行；制备各指示肽 (图3A-pCAP-250) (图3A、F、H、I、K pCAP402、pCAP 404、pCAP409和pCAP 364) 的10个系列稀释物；向每个肽样品添加标记的蛋白并加载至毛细管。使用不同浓度的肽分析样品的荧光wt p53DBD在温度梯度下的运动。MST分析结果以从生产商数据分析软件获得的曲线来呈现。

[0088] 图4A-D显示多种施用模式的药代动力学。图4A: 1 mg/kg iv施用后的pCAP-250的血浆浓度相对于时间概况 (平均值±SD, n=3)。图4B: 连续皮下施用7天后的pCAP-250的血浆浓度相对于时间概况 (平均值±SD, n=3)。图4C: 1 mg/kg iv施用后的pCAP-250的血浆浓度相对于时间概况 (平均值±SD, n=3)。图4D: 1 mg/kg皮下施用后的pCAP-250的血浆浓度相对于时间概况 (平均值±SD, n=3)。

[0089] 图5A-D:pCAP-250肽在小鼠异种移植模型中的体内效果。

[0090] 将表达荧光素酶的2\*10<sup>5</sup>个ES2细胞注射至裸小鼠臀部。测量生物发光。注射后12天，将小鼠随机分配至4个组，并每周三次肿瘤内注射2种对照肽 (pCAPs 76和12; 每种肽5  $\mu$ g) 的混合物或pCAP-250 (10  $\mu$ g)。可选地，向小鼠移植Alzet微型泵，其含有在PBS中0.8 mg对照肽或在PBS中0.8 mg pCAP-250。图5A，在实验终止时 (第21天)，对照组小鼠和肿瘤内pCAP-250治疗的小鼠的活体成像。图5B，在实验终止时 (第14天)，对照组小鼠和Alzet微型泵pCAP-250治疗的小鼠的活体成像。图5C，对照小鼠和有效的pCAP-250组：显示作为时间的函数的肿瘤中荧光素酶读数的箱线图；显示了在治疗开始之前 (至第0天) 和之后的平均值 (水平线)，标准差 (盒)，最高和最低读数。IVIS系统的背景阈值检测水平为约5x10<sup>6</sup>个光子。图5D，对照小鼠和有效的pCAP-250组：显示作为时间的函数的肿瘤中荧光素酶读数的箱线图；显示了在治疗开始之前 (至第0天) 和之后的平均值 (水平线)，标准差 (盒)，最高和最低读数。IVIS系统的背景阈值检测水平为约5x10<sup>6</sup>个光子。

[0091] 图6A-C显示HSTPHPD肽序列在P53 DNA结合结构域(DBD) 的表面上的可选预测的肽

结合位置。DBD以青色卡通图像显示,且预测的肽以洋红色棒显示。图6A:DBD肽复合物的概览。图6B:DBD-肽结合交界面的更近的检查。图6C:DBD (链B) 和预测的肽结合位置 (链A) 之间的非键相互作用的详细的原子列表。

[0092] 图7显示一式三份的p53再活化肽的剂量应答效果。SW489细胞系包含p53突变型p53R273H。在96孔板中以3000个细胞/孔培养细胞。添加不同肽的系列稀释物并且将板在37℃另外温育72h。随后将培养基移除,并通过使用在甲醇/PBS (1:5, v/v) 中的结晶紫(0.05%)将细胞染色10分钟,随后使用PBS洗涤3次,来测定细胞生存力。向每孔添加10%乙酸,进行10分钟。在595 nm测定OD。将结果归一化至未处理细胞100%生存力。

[0093] 图8显示了一式三份的p53再活化肽的剂量应答效果。ES2细胞系包含p53突变型S241F。在96孔板中以3000个细胞/孔培养细胞。添加不同肽的系列稀释物并且将板在37℃另外温育48h。随后将培养基移除,并通过使用在甲醇/PBS (1:5, v/v) 中的结晶紫(0.05%)将细胞染色10分钟,随后使用PBS洗涤3次,来测定细胞生存力。向每孔添加10%乙酸,进行10分钟。在595 nm测定OD。将结果归一化至未处理细胞100%生存力。

[0094] 图9显示在293 K处获得的野生型p53核心结构域(DBD) 的1H-15N HSQC谱,由Wong等人产生的DBD (SEQ ID NO: 44的94-312) 谱和残基分配以黑色显示[Wong, K.B., 等人, Hot-spot mutants of p53 core domain evince characteristic local structural changes. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. 96(15): p. 8438-42]。对游离DBD (94-296) 和对DBD-pCAP 250复合物产生的NMR谱分别以蓝色和红色显示。中等(C277和R280) 和强烈的峰变化(G117) 的实例分别以洋红色和棕色突出显示。H115和Y126的峰区域以黄色突出显示。

[0095] 图10显示对于由于pCAP 250 (SEQ ID NO: 1) 与DBD结合而导致的1H-15N HSQC谱变化,DBD结构的作图。DBD结构以卡通图像显示且DNA为黄色。来自Wong等人(同上)的分析的未分配的残基为绿色,且涉及在添加pCAP 250后峰变化的残基为洋红色。

[0096] 图11A-B显示了H115、G117和Y126的结构重组。DBD结构以卡通图像显示且DNA为黄色。H115、G117和Y126显示为绿色棒,且L1环为洋红色。图11A和11B分别呈现了由NMR (pdb码2FEJ) 解析的前两种最佳能量的DBD构象。

[0097] 图12显示了在293 K获得的野生型p53 DBD-肽复合物的1H-15N HSQC谱。对DBD-pCAP 250和对DBD-pCAP 615 (SEQ ID NO: 465) 蛋白肽复合物产生的NMR谱分别以红色和绿色显示。H115和Y126的峰以圆形突出显示。

[0098] 图13显示了在293 K获得的野生型p53 DBD和DBD-pCAP 553 (SEQ ID NO: 429) -复合物的1H-15N HSQC谱。对游离DBD和对DBD-pCAP 553蛋白肽复合物产生的NMR谱分别以蓝色和红色显示。特异性地出现在pCAP 553肽版本中的强烈未分配的峰以绿色椭圆形突出显示。在DBD-pCAP 553复合物中变得更加致密且圆的峰的几个实例以棕色椭圆形突出显示。

[0099] 图14显示DBD-pCAP 250复合物的前两种预测的肽结合模型。DBD结构以卡通图像显示且DNA为黄色。H115、G117和Y126显示为绿色棒,且L1环为洋红色。DBD-pCAP 250复合物的前两种预测的肽结合模型为青色。

[0100] 发明详述

[0101] 本发明,在其一些实施方案中,涉及肽及其在治疗与突变型p53相关的疾病、病症

或病况中的用途。

[0102] 在详细解释本发明的至少一个实施方案之前,应当理解本发明不一定将其应用限制于以下说明中所示或通过实施例示例的细节。本发明能够具有其它实施方案或能够以各种方式实践或实施。

[0103] 本发明的一些实施方案的发明人在先前已经描述了噬菌体展示用于选择mutp53-再活化肽的应用(WO2015/019318,其通过引用以其整体并入本文)。显示包括pCAP 250 (SEQ ID NO: 1) 的先导肽在体外和活细胞中赋予mutp53野生型p53样活性,并且导致在几种异种移植模型中携带mutp53的肿瘤的消退。

[0104] 在将本发明变成实践时,本发明人已经发现pCAP 250结合p53的DNA结合结构域(DBD)。使用丙氨酸扫描的结构/功能分析揭示了pCAP 250结合DBD的共有序列。

[0105] NMR实验结果提供了pCAP 250及其肽变体明确结合p53蛋白的野生型DBD的进一步证据。这些结果支持了使用微量热泳(MST)分析(图3A-I和图3K)的关于pCAP 250与DBD结合的发现。NMR结果进一步指示pCAP 250及其肽变体的结合诱导DBD中的结构变化,其直接影响了DBD-DNA结合界面区(即螺旋-2和L1环结构基序,其对于DBD结合DNA的能力至关重要)的完整性和稳定性。pCAP 250及其肽变体的结合进一步影响了螺旋2和L1环结构基序周围的另外的残基,在DBD表面产生相对大且明确受影响斑块(patch)。

[0106] 这些发现允许设计新型肽,所述肽与p53的DBD共享相同的相互作用,且能够至少部分地使突变型p53再活化,被赋予抗癌活性的此类肽显示于实施例5中。

[0107] 因此,根据本发明的一个方面,提供了分离肽,所述肽包含在空间和构型上排列为允许所述肽与p53的DNA结合结构域(DBD)通过DBD的至少一个残基相互作用的氨基酸序列,其中通过所述相同的至少一个残基,pCAP 250 (SEQ ID NO: 1)结合所述DBD,其中所述肽至少部分地将突变型p53再活化。

[0108] 根据具体的实施方案,所述肽不是W02015/019318的SEQ ID NO: 1-338,368-382(即本文的SEQ ID NO: 59-382)。

[0109] 根据具体的实施方案,所述肽不是W02015/019318(通过引用以其整体并入本文)中教导的具有使突变型p53再活化的活性的任何肽。

[0110] 如本文所用的术语“分离的”是指至少部分地与自然环境(例如与身体或从肽文库)分开。

[0111] 如本文所用的术语“p53”也被称为“TP53”,是指编码EC 2.7.1.37的蛋白产物的基因序列,其通常作为转录因子起作用,调节细胞周期,因此在其野生型形式下作为肿瘤抑制基因起作用。根据具体的实施方案,p53是人p53。

[0112] 如本文所用,术语“野生型p53”、“wt p53”和“WT p53”可互换地使用并且涉及野生型p53蛋白,具有野生型p53蛋白的构象且因此具有野生型p53蛋白的活性。在一些实施方案中,野生型p53可以通过特异性单克隆抗体鉴定。在某些实施方案中,所述单克隆抗体是Ab1620。

[0113] 所述蛋白的结构数据可以得自PDBeRCSB。

[0114] 关于蛋白的术语“构象”涉及蛋白在空间中的结构排列(折叠)。

[0115] 如本文所用,术语“突变型p53”、“Mut-p53”、“突变的p53”和“p53突变型”可互换地使用且涉及突变的p53蛋白,其不能有效地在靶标细胞中起作用。在一些实施方案中,突变

型p53不能结合其靶标位点。在一些实施方案中，突变型p53在DNA结合结构域(DBD)区域突变。在一些实施方案中，突变型p53错误折叠成失活构象。在一些示例性实施方案中，突变型p53是温度敏感型(ts)突变型p53R249S(R249S p53)、热点全长突变型p53 Mut-p53 R175H(R175H p53)或任何其他突变型p53蛋白。在一些实施方案中，通过特异性单克隆抗体鉴定突变型p53，所述抗体能够识别p53的错误折叠构象(由p53的突变诱导)。在一些实施方案中，突变型p53通过特异性单克隆抗体鉴定。在某些实施方案中，所述单克隆抗体是Ab420。

[0116] 在某些实施方案中，突变型p53蛋白包含选自以下的突变：R175H、V143A、R249S、R273H、R280K、P309S、P151S、P151H、C176S、C176F、H179L、Q192R、R213Q、Y220C、Y220D、R245S、R282W、D281G、S241F、C242R、R248Q、R248W、D281G、R273C和V274F。每种可能代表本发明的一个单独的实施方案。

[0117] 如本文所述的术语“再活化肽”、“突变型p53再活化肽”或“所述肽”可以互换地使用并且涉及能够至少部分地使突变型p53恢复活性的肽。如本文所用的短语“再活化突变型p53蛋白”是指这样的肽，在其与突变型p53蛋白相互作用后，增加了所述突变型p53蛋白的至少一种活性，其中所述活性是野生型p53蛋白的活性。例如，在与本发明提供的肽相互作用后，突变型p53蛋白可以以野生型p53蛋白在相似情况下的相似方式，直接或间接地增加促凋亡蛋白(诸如半胱天冬酶)在癌细胞中的表达；或在体内抑制肿瘤，如可以使用疾病的异种移植小鼠模型测定的。

[0118] 不受到理论的制约，这表明所述再活化肽在DBD结合突变型p53并且热力学地稳定野生型p53蛋白折叠并且因此恢复肿瘤抑制功能。

[0119] 在一些实施方案中，所述再活化肽可以通过影响突变型p53的构象，再活化突变型p53，以呈现与天然的野生型p53更相似或相同的构象。在一些实施方案中，所述再活化肽可以再活化突变型p53以恢复突变型p53与靶标DNA中的野生型p53结合位点的结合。在一些实施方案中，所述再活化肽可以恢复突变型p53的生化性质。在一些实施方案中，所述再活化肽可以诱导突变型p53蛋白以展示癌细胞的p53-选择性抑制。在一些实施方案中，所述再活化肽可以再活化突变型p53，以使其具有与野生型p53相似(即，在突变型p53和野生型p53之间±10%、20%、30%的差异)或相同的结构性质、生化性质、生理性质和/或功能性质，诸如本文描述的结合/结构测定(例如MST和NMR)所确定的。

[0120] 在一些实施方案中，所述再活化肽是具有3-30个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有7-30个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有12-30个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有3-25个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有7-25个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有12-25个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有3-22个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有7-22个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有6-9个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有7-10个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是具有6-10个氨基酸的长度的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为9-10个氨基酸的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为8-10个氨基酸的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为6-9个氨基酸

的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为6-8个氨基酸的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为6-7个氨基酸的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为7-8个氨基酸的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为7-9个氨基酸的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为5-20个氨基酸的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为6-15个氨基酸的肽。在一些实施方案中，所述再活化肽是长度为7或12个氨基酸的肽。

[0121] 如在本文中可互换使用的术语“能够至少部分地再活化突变型p53蛋白”或“至少部分地再活化突变型p53蛋白”是指这样的肽，其中当所述肽与突变型p53蛋白结合后，突变型p53蛋白获得或增加了与野生型p53蛋白相应活性相似的活性。

[0122] 如本文所用的p53的“DNA结合结构域”或“DBD”是指p53的结合靶蛋白中p53应答元件的结构域(例如共有DNA结合元件包含SEQ ID NO: 44所示的氨基酸序列或由其组成)，其通常归于人p53 (全长p53 GenBank: BAC16799.1, SEQ ID NO: 44) 的残基94-292、91-292、94-293、94-296、91-296、91-293、94-312或92-312。根据具体的实施方案，所述DBD是突变的p53的。

[0123] 如提及的，所述肽包含在空间和构型上排列为允许所述肽与p53的DBD通过至少一个DBD的残基相互作用的氨基酸序列，其中pCAP 250 (SEQ ID NO: 1) 通过所述至少一个残基与DBD结合。

[0124] 因此，根据本发明的一些实施方案的再活化肽通常与p53的DBD结构域结合，使得所述肽的反应基团定位于足够接近DBD中相应的反应基团(通常为氨基酸残基的侧链)，从而允许在DBD中存在有效浓度的所述肽，并且另外地，所述肽的反应基团以适当的方向定位，以允许重叠和因此允许强化学相互作用和低解离。根据本发明的一些实施方案的再活化肽因此通常包括已知参与相互作用的结构元件，并且还可以具有其构象灵活性的限制，从而避免影响或减弱其与p53的DBD结合的构象变化。

[0125] 根据一些实施方案，所述相互作用是经由所述DBD的螺旋-2和L1。

[0126] 通常，螺旋-2定位于氨基酸276-289之间，且L1位于氨基酸112-124之间。

[0127] 根据一些实施方案，所述相互作用影响所述DBD的螺旋-2和/或L1的结构稳定性，如通过NMR测定的。

[0128] 根据一些实施方案，DBD中介导与所述肽相互作用的至少一个残基选自：p53的L1的H115、G117和p53的Y126和V274和G279和R280 (野生型或突变型，其中氨基酸差异通常是不显著影响氨基酸编号的单一氨基酸)。但是，技术人员将知晓如何找到相应的氨基酸(就突变型p53中的组成和位置而言)。

[0129] 根据一些实施方案，所述肽与DBD的相互作用是非共价的，例如水介导的氢键结合相互作用。

[0130] 根据一些实施方案，所述相互作用是通过所述氨基酸序列的至少一个氨基酸。

[0131] 根据一些实施方案，所述相互作用是通过所述氨基酸序列的至少两个氨基酸。

[0132] 根据一些实施方案，所述相互作用是通过所述氨基酸序列的至少三个氨基酸。

[0133] 根据一些实施方案，所述相互作用是通过所述氨基酸序列的至少四个氨基酸。

[0134] 根据具体的实施方案，所述相互作用是与人p53的氨基酸Trp146和/或Gln144。这种相互作用可能经由pCAP 250的Ser或类似结构的其类似物，如下文进一步描述的。

[0135] 根据具体的实施方案，所述相互作用是与人p53的氨基酸Tyr126、Asn128和/或

Asp268。

[0136] 根据另一个具体的实施方案,所述相互作用是与人p53的氨基酸Lys101,经由pCAP 250的Asp10或类似结构的其类似物,如下文进一步描述的。

[0137] 根据另一个具体的实施方案,所述相互作用是与人p53的氨基酸Thr102,经由pCAP 250的Asp10或类似结构的其类似物,如下文进一步描述的。

[0138] 根据另一个具体的实施方案,所述相互作用是与人p53的氨基酸Phe113,经由pCAP 250的Thr6或类似结构的其类似物,如下文进一步描述的。

[0139] 根据另一个具体的实施方案,所述相互作用是与人p53的氨基酸Trp146,经由pCAP 250的Ser5或类似结构的其类似物,如下文进一步描述的。

[0140] 根据另一个具体的实施方案,所述相互作用是与人p53的氨基酸Ser5,经由pCAP 250的Thr6或类似结构的其类似物,如下文进一步描述的。

[0141] 根据另一个具体的实施方案,所述相互作用是与人p53的氨基酸His8,经由pCAP 250的Thr6或类似结构的其类似物,如下文进一步描述的。

[0142] 根据另一个具体的实施方案,所述相互作用是与人p53的氨基酸Gly112,经由pCAP 250的Ser5或类似结构的其类似物,如下文进一步描述的。

[0143] 根据另一个具体的实施方案,所述相互作用是与人p53的氨基酸Gly112,经由pCAP 250的Thr6或类似结构的其类似物,如下文进一步描述的。

[0144] 另外提出的用于在p53 DBD表面上的相互作用的位置在图6A-C列出,其被认为是说明书的一部分,其中每种可能代表了一个独立的实施方案。

[0145] 另外提出的用于在p53 DBD表面上的相互作用的位置在图9-14列出,其被认为是说明书的一部分,其中每种可能代表了一个独立的实施方案。

[0146] 阐明在所述肽或在所述DBD中对相互作用非常重要的氨基酸的方法是本领域熟知的并且包括,但不限于晶体学,以及使用基于计算机的算法,例如AnchorDock (Ben Shimon Structure.2015 May 5;23 (5) :929-40),虚拟晶体学计算器V.2.等。

[0147] 根据具体的实施方案,所述肽包含共有基序。

[0148] 如本文使用的术语“共有基序”是指连续或不连续的至少3个氨基酸、4、5或6个氨基酸的氨基酸序列。根据具体的实施方案,所述共有基序是6个连续氨基酸的长度。

[0149] 根据具体的实施方案,所述肽包含以下氨基酸序列:

[0150]  $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6$  (SEQ ID NO: 53)

[0151] 其中,

[0152]  $X_1$ 和 $X_5$ 是带正电荷氨基酸;

[0153]  $X_2$ 选自Ser、Thr、Asn、Gln、Pro、Ala和Gly;

[0154]  $X_3$ 是任何氨基酸;

[0155]  $X_4$ 和 $X_6$ 选自 $\alpha$ 甲基氨基酸和 $\beta$ 断裂子氨基酸。

[0156] 根据具体的实施方案,所述肽包含以下氨基酸序列:

[0157]  $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6$  (SEQ ID NO: 54)

[0158] 其中,

[0159]  $X_1$ 和 $X_5$ 选自His、Arg和Lys;

[0160]  $X_2$ 选自Ser、Thr、Asn、Gln、Pro、Ala和Gly;

- [0161]  $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_6$ 是任何氨基酸。
- [0162] 如本文所用的“带正电荷氨基酸”是可以在生理pH下带正电(即质子化)的氨基酸。
- [0163] 根据一个实施方案,所述带正电荷氨基酸选自His、二氨基丁酸(Dab)、Arg和Lys。
- [0164] 根据具体的实施方案, $X_3$ 是D-氨基酸。
- [0165] 根据具体的实施方案, $X_3$ 是磷酸化的(例如磷酸丝氨酸)或其仿磷酸化物(例如Glu或Asp)。
- [0166] 根据具体的实施方案, $X_3$ 是不可磷酸化的氨基酸(例如Val)。
- [0167] 根据具体的实施方案, $X_3$ 是非氢键结合的氨基酸(例如Ala)。
- [0168] 根据具体的实施方案, $X_3$ 选自极性不带电荷氨基酸(例如Ser)和疏水氨基酸(例如Ile)。
- [0169] 根据具体的实施方案, $X_2$ 是Ser。
- [0170] 根据具体的实施方案, $X_4$ 和 $X_6$ 选自Ser、Thr、Pro、Ala和Gly。
- [0171] 根据具体的实施方案, $X_4$ 是 $\alpha$ 甲基氨基酸或 $\beta$ 断裂子,例如Pro、Aib或Ala。
- [0172] 根据具体的实施方案, $X_4$ 是 $\alpha$ 甲基氨基酸。
- [0173] 根据具体的实施方案, $X_6$ 是Ala。
- [0174] 根据具体的实施方案,所述肽具有氨基酸序列HSAPHP (SEQ ID NO: 46)。
- [0175] 根据具体的实施方案,所述肽包含连接至所述氨基酸序列C-端的至少一个另外的氨基酸( $X_7$ )。
- [0176] 根据具体的实施方案,所述至少一个另外的氨基酸是带负电荷的氨基酸(即在生理pH下通常带负电(即去质子化)的氨基酸)或小氨基酸(例如Gly、Ala、Val)。
- [0177] 根据具体的实施方案,所述至少一个另外的氨基酸选自Asp、Glu、Gly、Ala和Ser。
- [0178] 根据具体的实施方案,所述至少一个带负电荷的氨基酸是Asp。
- [0179] 根据具体的实施方案,所述至少一个另外的氨基酸包含两个另外的氨基酸( $X_7$ - $X_8$ )且其中所述 $X_8$ 选自His、Dab、Asp和Glu。
- [0180] 根据具体的实施方案,所述至少一个带负电荷的氨基酸是Asp或两个连续Asp残基。
- [0181] 根据具体的实施方案,所述肽包含连接至所述氨基酸序列N-端的至少一个另外的氨基酸。
- [0182] 根据具体的实施方案,所述肽包含连接至所述氨基酸序列N-端的至少两个另外的氨基酸。
- [0183] 根据具体的实施方案,连接至所述氨基酸序列N-端的至少一个另外的氨基酸是Arg或两个连续的Arg残基。
- [0184] 所述肽与DBD的结合可以使用本领域已知的任何方法确定,诸如竞争测定,其中使用可溶性DBD作为竞争剂。
- [0185] 如本文所用的术语“重组或合成肽”是指通过本领域已知的标准生物技术方法产生的肽,诸如在细菌中表达或固相肽合成(SPPS)。
- [0186] 根据具体的实施方案,所述肽进一步包含细胞穿透部分,其可以连接至所述肽的N-端、所述肽的C-端或所述肽的两个末端。应当理解,这个部分还可以不经由其末端结合至肽主体,只要其不干扰所述肽与DBD的结合。应当理解,这个部分是异源部分,其不以相同方

式(即,在位置或化学方面)结合天然的肽。

[0187] 如本文使用的术语“穿透性”是指试剂或物质穿透、弥散或分散通过屏障、膜或皮肤层的能力。“细胞穿透性”或“细胞穿透”部分是指能够促进或增强分子通过膜穿透的本领域已知的任何分子。

[0188] 如本文所用的短语“穿透性增强部分”是指增强任何连接的肽跨越细胞膜的转位的试剂。

[0189] 可以使用本领域中已知的主动或被动促进或增加组合物至细胞内的穿透性的任何部分,用于与根据本发明的肽核心缀合。非限制性的实例包括:疏水部分诸如脂肪酸、类固醇和大体积芳族或脂肪族化合物;可以具有细胞膜受体或载体的部分,诸如类固醇、维生素和糖、天然(例如带正电荷的氨基酸,例如Lys或Arg)和非天然氨基酸和蛋白部分,例如转运肽,也被称为“细胞穿透肽”或CPP、多聚精氨酸或多聚赖氨酸、其组合,或抗体。根据一些实施方案,所述蛋白质部分是CPP。根据一些实施方案,所述蛋白质部分是多精氨酸。根据一些实施方案,所述疏水部分是脂质部分或氨基酸部分。根据本发明的一些实施方案,所述细胞穿透部分是蛋白部分和基于脂质部分的组合(例如,一个来自肽的N端且另一个来自肽的C端)。

[0190] 细胞穿透肽(CPP)是短肽( $\leq 40$ 个氨基酸),具有获得进入几乎任何细胞内部的能力。它们高度阳离子性并且通常富含精氨酸和赖氨酸氨基酸。事实上,本发明人已经使用带正电荷的氨基酸(在一肽末端)或多聚阳离子氨基酸(至少2个,例如2-12个)多聚-Arg来赋予所述肽细胞穿透性。它们具有将各种共价和非共价缀合的负荷,诸如蛋白质、寡核苷酸和甚至200nm的脂质体携带进入细胞的优越性质。因此,根据另外的示例性实施方案,CPP可以用于将肽转运至细胞内部。

[0191] TAT(来自HIV-1的转录激活因子)、pAntp(也称为穿透素(penetratin),果蝇触角足基因同源结构域转录因子)和VP22(来自单纯性疱疹病毒)是CPP的实例,其可以以无毒且有效的方式进入细胞并且可适合用于本发明的一些实施方案。产生CPP-负载缀合物和使用此类缀合物感染细胞的方案可以见于,例如L Theodore等人[The Journal of Neuroscience, (1995) 15(11): 7158-7167], Fawell S, 等人[Proc Natl Acad Sci USA, (1994) 91:664-668], 和Jing Bian等人[Circulation Research (2007) 100: 1626-1633]。

[0192] 然而,本公开并不限于此,且可以使用任何合适的穿透剂,如本领域技术人员已知的。

[0193] 当本发明的肽连接至细胞穿透肽时,可以理解为全长肽不大于50个氨基酸、不大于40个氨基酸、不大于35氨基酸、不大于30氨基酸、不大于25氨基酸、不大于22氨基酸、不大于20氨基酸、不大于15氨基酸、不大于12氨基酸、不大于10氨基酸、不大于9个氨基酸、不大于8氨基酸,或不大于7氨基酸。

[0194] 非蛋白质的细胞穿透部分的非限制实例包括:疏水部分诸如脂质、脂肪酸、类固醇和大体积芳族或脂肪族化合物;可以具有细胞膜受体或载体的部分,诸如类固醇、维生素和糖,纳米颗粒和脂质体。

[0195] 如本文所用的术语“脂肪酸部分”是指脂肪酸的部分,其展示与相应的完整脂肪酸来源分子相似的具体的化学和药理学特征的组。该术语进一步是指包含脂肪(羧)酸的酰基

组分的任何分子种类和/或分子片段。

[0196] 根据本发明的穿透性增强部分优选经由直接键合或经由接头共价连接至所述肽序列,以形成肽缀合物。所述穿透性增强部分可以直接或通过间隔物连接至所述肽部分的任何位置,优选连接至肽的氨基末端。根据某些实施方案,所述穿透性增强部分是脂肪酸。

[0197] 根据本发明的疏水部分可以优选包含脂质部分或氨基酸部分。根据具体的实施方案,所述疏水部分选自:磷脂类、类固醇类、鞘氨醇、神经酰胺类、辛基-甘氨酸、2-环己基丙氨酸、苯甲酰基苯丙氨酸、丙酰基( $C_3$ ) ;丁酰基( $C_4$ ) ;戊酰基( $C_5$ ) ;己酰基( $C_6$ ) ;庚酰基( $C_7$ ) ;辛酰基( $C_8$ ) ;壬酰基( $C_9$ ) ;癸酰基( $C_{10}$ ) ;十一烷酰基( $C_{11}$ ) ;月桂酰基( $C_{12}$ ) ;十三烷酰基( $C_{13}$ ) ;肉豆蔻酰基( $C_{14}$ ) ;十五烷酰基( $C_{15}$ ) ;棕榈酰基( $C_{16}$ ) ;phtanoyl (( $CH_3$ )<sub>4</sub>) ;十七烷酰基( $C_{17}$ ) ;硬脂酰基( $C_{18}$ ) ;十九烷酰基( $C_{19}$ ) ;花生酰基(arachidoyl) ( $C_{20}$ ) ;二十一烷酰基(heniecosanoyl) ( $C_{21}$ ) ;山嵛酰基( $C_{22}$ ) ;二十三烷酰基(trucisanoyl) ( $C_{23}$ ) ;和二十四烷酰基(lignoceroyl) ( $C_{24}$ ) ;其中所述疏水部分以酰胺键、巯基、胺、醇、酚基或碳-碳键连接至所述嵌合多肽。

[0198] 根据本发明可以使用的脂类部分的其它实例为:Lipofectamine、Transfectace、Transfectam、Cytofectin、DMRIE、DLRIE、GAP-DLRIE、DOTAP、DOPE、DMEAP、DODMP、DOPC、DDAB、DOSPA、EDLPC、EDMPC、DPH、TMADPH、CTAB、赖氨酰-PE、DC-Cho、-丙氨酰胆固醇;DCGS、DPPES、DCPE、DMAP、DMPE、DOGS、DOHME、DPEPC、普兰尼克(Pluronic)、Tween、BRIJ、缩醛磷脂、磷脂酰乙醇胺,磷脂酰胆碱、甘油-3-乙基磷脂酰胆碱、二甲基铵丙烷、三甲基铵丙烷、二乙基铵丙烷、三乙基铵丙烷、二甲基双十八烷基溴化铵、鞘脂类,鞘磷脂、溶血脂(lysolipid)、糖脂(glycolipid)、硫苷脂(sulfatide)、鞘糖脂、胆固醇、胆固醇酯、胆固醇盐、油、N-琥珀酰基二油酰基磷脂酰乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油、1,3-二棕榈酰基-2-琥珀酰基甘油、1,2-二棕榈酰基-sn-3-琥珀酰基甘油、1-十六烷基-2-棕榈酰基甘油基磷脂酰乙醇胺、棕榈酰基高半胱氨酸、N,N'-双(十二烷基氨基羰基亚甲基)-N,N'-双((-N,N,N-三甲基铵乙基-氨基羰基亚甲基)乙二胺四碘化物;N,N''-双(十六烷基氨基羰基亚甲基)-N,N',N''-三((-N,N,N-三甲基铵-乙基氨基羰基亚甲基)二亚乙基三胺六碘化物;N,N'-双(十二烷基氨基羰基亚甲基)-N,N''-双((-N,N,N-三甲基铵乙基氨基羰基亚甲基)亚环己基-1,4-二胺四碘化物;1,7,7-四-((-N,N,N,N-四甲基铵乙基氨基-羰基亚甲基)-3-十六烷基氨基羰基-亚甲基-1,3,7-三氮杂庚烷七碘化物;N,N,N',N'-四((-N,N,N-三甲基铵-乙基氨基羰基亚甲基)-N'--(1,2-二油酰基甘油基-3-磷酰乙醇氨基羰基亚甲基)二亚乙基三胺四碘化物;二油酰基磷脂酰乙醇胺、脂肪酸、溶血脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰甘油、磷脂酰肌醇、鞘脂、糖脂、糖脂(glucolipid)、硫苷脂、鞘糖脂、磷脂酸、棕榈酸、硬脂酸、花生四烯酸、油酸、携带聚合物的脂质、携带磺化糖的脂质、胆固醇,生育酚半琥珀酸酯、具有醚连接的脂肪酸的脂质、具有酯连接的脂肪酸的脂质、聚合脂质,磷酸二乙酰酯、硬脂胺、心磷脂、具有6-8个碳长度的脂肪酸的磷脂、具有不对称酰基链的磷脂、6-(5-胆甾烯(cholestren)-3b-基氧基)-1-硫代-b-D-吡喃半乳糖昔、二半乳糖基二甘油酯、6-(5-胆甾烯-3b-基氧基)己基-6-氨基-6-脱氧-1-硫代-b-D-吡喃半乳糖昔、6-(5-胆甾烯-3b-基氧基)己基-6-氨基-6-脱氧-1-硫代-a-D-吡喃甘露糖昔、12-(((7'-二乙基氨基-香豆素-3-基)羰基)甲基氨基)-十八烷酸;N-[12-(((7'-二乙基氨基香豆素-3-基)羰基)甲基-氨基)十八烷酰基]-2-氨基棕榈酸;胆甾醇)4'-三甲基-铵基)丁酸酯;N-琥珀酰基二油酰基-磷脂

酰乙醇胺；1,2-二油酰基-sn-甘油；1,2-二棕榈酰基-sn-3-琥珀酰基-甘油；1,3-二棕榈酰基-2-琥珀酰基甘油、1-十六烷基-2-棕榈酰基甘油基-磷酸乙醇胺和棕榈酰基高半胱氨酸。  
[0199] 术语“多肽”和“肽”在本文中可互换使用，是指氨基酸残基的聚合物。所述术语适用于其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的人工化学类似物的氨基酸聚合物，以及适用于天然存在的氨基酸聚合物。

[0200] 如本文使用的术语“肽”涵盖天然肽(降解产物、合成的合成肽或重组肽)和拟肽(通常为合成的合成肽)，以及类肽和半肽，它们是肽类似物，可以具有例如使肽在体内时更稳定或更能够穿透至细胞内的修饰。这样的修饰包括，但不限于N端修饰，C端修饰，肽键修饰，主链修饰和残基修饰。制备拟肽化合物是方法是本领域熟知的，并且例如在Quantitative Drug Design, C.A. Ramsden Gd., Chapter 17.2, F. Choplin Pergamon Press (1992)中指出，其通过引入并入本文，如同完全在本文中阐述。下文提供了这方面的进一步的细节。

[0201] 所述肽内的肽键(-CO-NH-)可以被取代，例如，通过N-甲基化酰胺键(-N(CH<sub>3</sub>)-CO-)、酯键(-C(=O)-O-)、酮亚甲基键(-CO-CH<sub>2</sub>-)、亚磺酰基亚甲基键(-S(=O)-CH<sub>2</sub>-)、α-氮杂键(-NH-N(R)-CO-)，其中R是任何烷基(例如，甲基)、胺键(-CH<sub>2</sub>-NH-)、硫键(-CH<sub>2</sub>-S-)、亚乙基键(-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-)、羟亚乙基键(-CH(OH)-CH<sub>2</sub>-)、硫代酰胺键(-CS-NH-)、烯族双键(-CH=CH-)、氟化烯族双键(-CF=CH-)、逆酰胺键(-NH-CO-)、肽衍生物(-N(R)-CH<sub>2</sub>-CO-)，其中R是“正常”侧链，天然地存在于碳原子上。

[0202] 这些修饰可以发生在肽链的任何键上并且甚至可以同时在几个(2-3)键上发生。

[0203] “保守取代”是指一种类型中的氨基酸被相同类型中的氨基酸取代，其中类型通过共同的物理-化学氨基酸侧链性质和自然界中发现的同源蛋白中的高取代频率来定义，如例如通过标准Dayhoff频率交换矩阵或BLOSUM矩阵来确定。已经归类出氨基酸侧链的六个一般类型且包括：I类(Cys)；II类(Ser、Thr、Pro、Ala、Gly)；III类(Asn、Asp、Gin、Glu)；IV类(His、Arg、Lys)；V类(He、Leu、Val、Met)；和VI类(Phe、Tyr、Trp)。例如，用Asp取代另一III类残基诸如Asn、Gin或Glu是保守取代。

[0204] 其它分类包括带正电氨基酸(Arg、His、Lys)、带负电氨基酸(Asp、Glu)、极性不带电(Ser、Thr、Asn、Gln)、疏水侧链(Ala、Val、Ile、Leu、Met、Phe、Tyr、Trp)。

[0205] “非保守取代”是指一种类型中的氨基酸被来自另一种类型的氨基酸取代；例如，Ala(II类残基)被III类残基(诸如Asp、Asn、Glu或Gin)取代。

[0206] 天然芳族氨基酸Trp、Tyr和Phe可以被非天然芳族氨基酸诸如1,2,3,4-四氢异喹啉-3-羧酸(Tic)、萘基丙氨酸、Phe的环-甲基化衍生物、Phe的卤代衍生物或0-甲基-Tyr取代。其它合成选项列于下文表2中。

[0207] 本发明的一些实施方案的肽还可以包括一种或多种经修饰的氨基酸或一种或多种非氨基酸单体(例如脂肪酸、复合碳水化合物等)。

[0208] 术语“(一种或多种)氨基酸”被理解为包括20种天然存在的氨基酸；这些氨基酸在体内通常翻译后修饰，包括例如羟脯氨酸、磷酸丝氨酸和磷酸苏氨酸；和其它非天然氨基酸包括，但不限于2-氨基己二酸、羟基赖氨酸、异锁链赖氨酸、正缬氨酸、正亮氨酸和鸟氨酸。此外，术语“氨基酸”包括D-和L-氨基酸两者。

[0209] 下文的表1和表2列出了天然存在的氨基酸(表1)和非常规氨基酸或经修饰的氨基

酸(例如合成的,表2),其可以用于本发明的一些实施方案中。

[0210] 表1

氨基酸	三字母缩写	单字母符号
丙氨酸	Ala	A
精氨酸	Arg	R
天冬酰胺	Asn	N
天冬氨酸	Asp	D
半胱氨酸	Cys	C
谷氨酰胺	Gln	Q
谷氨酸	Glu	E
甘氨酸	Gly	G
组氨酸	His	H
异亮氨酸	Ile	I
亮氨酸	Leu	L
赖氨酸	Lys	K
甲硫氨酸	Met	M
苯丙氨酸	Phe	F
脯氨酸	Pro	P
丝氨酸	Ser	S
苏氨酸	Thr	T
色氨酸	Trp	W
酪氨酸	Tyr	Y
缬氨酸	Val	V
如上的任何氨基酸	Xaa	X

[0211] 表2

非常规氨基酸	代码	非常规氨基酸	代码
鸟氨酸	Orn	羟基脯氨酸	Hyp
$\alpha$ -氨基丁酸	Abu	氨基降莰基-羧酸	Norb
D-丙氨酸	Dala	氨基环丙烷-羧酸	Cpro
D-精氨酸	Darg	N-(3-胍基丙基)甘氨酸	Narg
D-天冬酰胺	Dasn	N-(3-氨基甲酰甲基)甘氨酸	Nasn
D-天冬氨酸	Dasp	N-(3-羧甲基)甘氨酸	Nasp
D-半胱氨酸	Dcys	N-(硫甲基)甘氨酸	Ncys
D-谷氨酰胺	Dgln	N-(2-氨基甲酰乙基)甘氨酸	Ngln
D-谷氨酸	Dglu	N-(2-羧乙基)甘氨酸	Nglu
D-组氨酸	Dhis	N-(咪唑基乙基)甘氨酸	Nhis
D-异亮氨酸	Dile	N-(1-甲基丙基)甘氨酸	Nile
D-亮氨酸	Dleu	N-(2-甲基丙基)甘氨酸	Nleu
D-赖氨酸	Dlys	N-(4-氨基丁基)甘氨酸	Nlys
D-甲硫氨酸	Dmet	N-(2-甲基硫乙基)甘氨酸	Nmet
D-鸟氨酸	Dorn	N-(3-氨基丙基)甘氨酸	Norn
D-苯丙氨酸	Dphe	N-苄基甘氨酸	Nphe
D-脯氨酸	Dpro	N-(羟甲基)甘氨酸	Nser
D-丝氨酸	Dser	N-(1-羟乙基)甘氨酸	Nthr
D-苏氨酸	Dthr	N-(3-吲哚乙基)甘氨酸	Nhtrp
D-色氨酸	Dtrp	N-(对-羟苯基)甘氨酸	Ntyr
D-酪氨酸	Dtyr	N-(1-甲基乙基)甘氨酸	Nval
D-缬氨酸	Dval	N-甲基甘氨酸	Nmgly
D-N-甲基丙氨酸	Dnmala	L-N-甲基丙氨酸	Nmala
D-N-甲基精氨酸	Dnmarg	L-N-甲基精氨酸	Nmarg
D-N-甲基天冬酰胺	DnmASN	L-N-甲基天冬酰胺	Nmasn
D-N-甲基天冬氨酸	DnmASP	L-N-甲基天冬氨酸	Nmasp
D-N-甲基半胱氨酸	DnmCYS	L-N-甲基半胱氨酸	Nmcys
D-N-甲基谷氨酰胺	DnmGln	L-N-甲基谷氨酰胺	Nmgln
D-N-甲基谷氨酸	DnmGlu	L-N-甲基谷氨酸	Nmglu
D-N-甲基组氨酸	DnmHis	L-N-甲基组氨酸	Nmhis
D-N-甲基异亮氨酸	DnmIle	L-N-甲基异亮氨酸	Nmile
D-N-甲基亮氨酸	DnmLeu	L-N-甲基亮氨酸	Nmleu
D-N-甲基赖氨酸	DnmLys	L-N-甲基赖氨酸	Nmlys
D-N-甲基甲硫氨酸	DnmMet	L-N-甲基甲硫氨酸	Nmmet
D-N-甲基鸟氨酸	DnmORN	L-N-甲基鸟氨酸	Nmorn
D-N-甲基苯丙氨酸	DnmPhe	L-N-甲基苯丙氨酸	Nmphe
D-N-甲基脯氨酸	DnmPro	L-N-甲基脯氨酸	Nmpro
D-N-甲基丝氨酸	DnmSer	L-N-甲基丝氨酸	Nmser

[0212]

[0213]

D-N-甲基苏氨酸	Dnmthr	L-N-甲基苏氨酸	Nmthr
D-N-甲基色氨酸	Dnmtrp	L-N-甲基色氨酸	Nmtrp
D-N-甲基酪氨酸	Dnmtyr	L-N-甲基酪氨酸	Nmtyr
D-N-甲基缬氨酸	Dnmval	L-N-甲基缬氨酸	Nmval
L-正亮氨酸	Nle	L-N-甲基正亮氨酸	Nmnle
L-正缬氨酸	Nva	L-N-甲基正缬氨酸	Nmnva
L-乙基甘氨酸	Etg	L-N-甲基-乙基甘氨酸	Nmetg
L-叔丁基甘氨酸	Tbug	L-N-甲基-叔丁基甘氨酸	Nmtbug
L-高苯丙氨酸	Hphe	L-N-甲基-高苯丙氨酸	Nmhphe
$\alpha$ -萘基丙氨酸	Anap	N-甲基- $\alpha$ -萘基丙氨酸	Nmanap
青霉胺	Pen	N-甲基青霉胺	Nmpen
$\gamma$ -氨基丁酸	Gabu	N-甲基- $\gamma$ -氨基丁酸	Nmgabu
环己基丙氨酸	Chexa	N-甲基-环己基丙氨酸	Nmchexa
环戊基丙氨酸	Cpen	N-甲基-环戊基丙氨酸	Nmcpen
$\alpha$ -氨基- $\alpha$ -甲基丁酸	Aabu	N-甲基- $\alpha$ -氨基- $\alpha$ -甲基丁酸	Nmaabu
$\alpha$ -氨基异丁酸	Aib	N-甲基- $\alpha$ -氨基异丁酸	Nmaib
D- $\alpha$ -甲基精氨酸	Dmarg	L- $\alpha$ -甲基精氨酸	Marg
D- $\alpha$ -甲基天冬酰胺	Dmasn	L- $\alpha$ -甲基天冬酰胺	Masn
D- $\alpha$ -甲基天冬氨酸	Dmasp	L- $\alpha$ -甲基天冬氨酸	Masp
D- $\alpha$ -甲基半胱氨酸	Dmcys	L- $\alpha$ -甲基半胱氨酸	Mcys
D- $\alpha$ -甲基谷氨酰胺	Dmgln	L- $\alpha$ -甲基谷氨酰胺	Mgln
D- $\alpha$ -甲基谷氨酸	Dmglu	L- $\alpha$ -甲基谷氨酰胺	Mglu
D- $\alpha$ -甲基组氨酸	Dmhis	L- $\alpha$ -甲基组氨酸	Mhis
D- $\alpha$ -甲基异亮氨酸	Dmile	L- $\alpha$ -甲基异亮氨酸	Mile
D- $\alpha$ -甲基亮氨酸	Dmleu	L- $\alpha$ -甲基亮氨酸	Mleu
D- $\alpha$ -甲基赖氨酸	Dmlys	L- $\alpha$ -甲基赖氨酸	Mlys
D- $\alpha$ -甲基甲硫氨酸	Dmmet	L- $\alpha$ -甲基甲硫氨酸	Mmet
D- $\alpha$ -甲基鸟氨酸	Dmorn	L- $\alpha$ -甲基鸟氨酸	Morn
D- $\alpha$ -甲基苯丙氨酸	Dmphe	L- $\alpha$ -甲基苯丙氨酸	Mphe
D- $\alpha$ -甲基苯脯氨酸	Dmpro	L- $\alpha$ -甲基苯脯氨酸	Mpro
D- $\alpha$ -甲基丝氨酸	Dmser	L- $\alpha$ -甲基丝氨酸	Mser
D- $\alpha$ -甲基苏氨酸	Dmthr	L- $\alpha$ -甲基苏氨酸	Mthr
D- $\alpha$ -甲基色氨酸	Dmtrp	L- $\alpha$ -甲基色氨酸	Mtrp
D- $\alpha$ -甲基酪氨酸	Dmtyr	L- $\alpha$ -甲基酪氨酸	Mtyr
D- $\alpha$ -甲基缬氨酸	Dmval	L- $\alpha$ -甲基缬氨酸	Mval
N-环丁基甘氨酸	Ncbut	L- $\alpha$ -甲基正缬氨酸	Mnva
N-环庚基甘氨酸	Nchep	L- $\alpha$ -甲基乙基甘氨酸	Metg
N-环己基甘氨酸	Nchex	L- $\alpha$ -甲基-叔丁基甘氨酸	Mtbug
N-环癸基甘氨酸	Ncdec	L- $\alpha$ -甲基-高苯丙氨酸	Mhphe
N-环十二烷基甘氨酸	Ncdod	$\alpha$ -甲基- $\alpha$ -萘基丙氨酸	Manap
N-环辛基甘氨酸	Ncoct	$\alpha$ -甲基青霉胺	Mpen

	Ncpro	$\alpha$ -甲基- $\gamma$ -氨基丁酸	Mgabu
	Ncund	$\alpha$ -甲基-环己基丙氨酸	Mchexa
	Naeg	$\alpha$ -甲基-环戊基丙氨酸	Mcpen
	Nbhm	N-(2,2-二苯基乙基)氨基甲酰甲基-甘氨酸	Nnbhm
[0214]	Nbhe	N-(3,3-二苯基丙基)氨基甲酰甲基-甘氨酸	Nnbhe
	Nmhc	1,2,3,4-四氢 异喹啉-3-羧酸	Tic
	pSer	磷酸苏氨酸	pThr
	pTyr	O-甲基-酪氨酸	
		羟基赖氨酸	

[0215] 本发明的一些实施方案的肽优选以线性形式使用,尽管将理解,在环化没有严重干扰肽特征的情况下,也可以使用肽的环状形式。

[0216] 为了改善生物利用度,所述肽可以包含至少一个D氨基酸(例如2-7个、2-6个、2-5个、2-4个、2-3个)。根据具体的实施方案,所述肽中的全部氨基酸都是D氨基酸。

[0217] 在一些实施方案中,所述肽是化学修饰的。

[0218] “化学修饰的”是指通过天然过程或通过本领域众所周知的化学修饰技术修饰的氨基酸。在许多已知的修饰中,典型但不排他的实例包括:乙酰化、酰化、酰胺化、ADP-核糖基化、糖基化、糖胺多糖化、GPI锚形成、脂质或脂质衍生物的共价连接、甲基化、肉豆蔻酰化(myristylation)、聚乙二醇化、异戊二烯化、磷酸化、泛素化或任何类似过程(参见例如,SEQ ID NO: 2,17-19)。

[0219] 根据具体的实施方案,所述肽可以包含C端酰胺化。

[0220] 还可选地或另外地,所述肽可以缀合至非蛋白、非毒性部分,诸如但不限于聚乙二醇(PEG)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、聚(苯乙烯共马来酸酐)(SMA),和二乙烯醚和马来酸酐共聚物(DIVEMA)。

[0221] 应理解,本发明的肽还可以利用展示出期望活性(例如p53突变型的再活化)的肽同源物,在本文中也称作功能等同物,借以根据本领域已知的方法(诸如本文所述的)确定肽同源物的活性。此类同源物可以是例如,与SEQ ID NO: 53或54或1至少80%、至少81%、至少82%、至少83%、至少84%、至少5%、至少86%、至少87%、至少88%、至少89%、至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%、至少99%或100%相同(只要其不是W02015/019318中公开的肽(例如SEQ ID NO: 286-321))。

[0222] 根据具体的实施方案,所述肽包含氨基酸序列或如SEQ ID NO: 8,412-464中所示。

[0223] 根据具体的实施方案,所述肽选自以下序列:SEQ ID NO: 429、448、449、446和462。

[0224] 在某些实施方案中,所述肽至少部分地将突变型p53蛋白的构象改变为野生型(WT) p53蛋白的构象。

[0225] 本领域已知,仅特异性识别野生型p53蛋白的抗体。此类抗体在确定某些p53蛋白(野生型或突变型)是否维持了野生型的功能p53蛋白的构象中高度有用。因此,在某些实施

方案中,所述肽至少部分地改变突变型p53蛋白的构象,使得所述突变型p53蛋白被专门针对野生型p53蛋白或针对保持野生型p53蛋白构象的p53蛋白的单克隆抗体识别。在某些实施方案中,所述单克隆抗体是Ab1620。

[0226] 应当理解,因为p53从两个等位基因表达,细胞内p53总含量可以为野生型(wt/wt)、野生型和突变型p53的混合物(wt/mut),或仅突变型p53(当两个等位基因均突变(mut/mut),或一个等位基因缺失(mut/-)时)。在癌症中,情况通常是wt/mut、mut/mut或mut/-。因为p53作为四聚体起作用,突变型p53蛋白可以使可存在于癌细胞中的野生型p53蛋白的活性被废除。因此,本发明提供的肽特别可用于治疗其中野生型p53蛋白的水平增加没有产生结果的癌症。

[0227] 在某些实施方案中,所述肽至少部分地将突变型p53蛋白的活性恢复为野生型p53蛋白的活性的至少一种。

[0228] 如本文所用的术语“减少”是指在相同测定条件下,与对照(例如使用对照媒介物处理或完全没有处理的相同细胞/动物系统)相比,使特定表型在统计上显著地下降至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、95%或甚至100%。

[0229] 如本文所用的术语“增加”或“改善”是指在相同测定条件下,与对照(例如使用对照媒介物处理或完全没有处理的相同细胞/动物系统)相比,使特定表型在统计上显著地增加至少约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、75%、80%、95%或甚至100%。

[0230] 如本文所用的术语“表达突变型p53蛋白的细胞”是指从至少一个等位基因表达突变型p53蛋白的细胞。在某些实施方案中,术语“表达突变型p53蛋白的细胞”与“癌细胞”是可互换的。

[0231] 术语“促凋亡基因”是指直接(例如某些半胱天冬酶)或间接(例如,作为信号转导级联的一部分)参与凋亡的一个基因,或大量基因。

[0232] 在某些实施方案中,所述活性是降低表达突变型p53蛋白的细胞的生存力。在某些实施方案中,所述活性是促进表达突变型p53蛋白的细胞的凋亡。在某些实施方案中,所述活性是活化表达所述突变型p53蛋白的细胞的促凋亡基因。在某些实施方案中,所述促凋亡基因选自CD95、Bax、DR4、DR5、PUMA、NOXA、Bid、53AIP1和PERP。每种可能代表本发明的一个单独的实施方案。

[0233] 在某些实施方案中,所述活性是结合表达突变型p53蛋白的细胞中的p53共有DNA结合元件。在某些实施方案中,所述共有DNA结合元件包含SEQ ID NO: 55和56中所示的核酸序列或由其组成。

[0234] 监测通过本发明的任何肽诱导的细胞变化的方法是本领域已知的并且包括例如,MTT测试,其是基于活细胞将黄色的盐MTT(3-(4,5-二甲基噻唑基-2)-2,5-二苯基四唑溴)(Sigma, Aldrich St Louis, MO, USA)还原为蓝紫色不可溶甲臜沉淀物的选择能力;BrD测定[Cell Proliferation ELISA BrdU比色试剂盒(Roche, Mannheim, Germany];TUNEL测定[Roche, Mannheim, Germany];Annexin V测定[ApoAlert<sup>®</sup> Annexin V Apoptosis Kit (Clontech Laboratories, Inc., CA, USA)];衰老相关的β-半乳糖苷酶测定(Dimri GP, Lee X, 等人1995. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. Proc Natl Acad Sci U S A 92:9363-9367);以及多种RNA和蛋白检测方法(其检测表达和/或活性水平),其进一步在下文中描述。

[0235] 在某些实施方案中,所述结合导致内源性p53靶标基因的至少部分活化。在某些实施方案中,所述内源性靶标基因选自p21、MDM2和PUMA。每种可能代表本发明的一个单独的实施方案。

[0236] 在某些实施方案中,所述突变型p53蛋白与野生型p53蛋白的构象不同。在某些实施方案中,所述突变型p53蛋白与野生型p53蛋白相比至少部分失活。

[0237] 在某些实施方案中,所述突变型p53蛋白不被针对野生型p53蛋白的单克隆抗体识别。在某些实施方案中,所述突变型p53蛋白在结合所述肽后,被针对野生型p53蛋白的单克隆抗体识别。在某些实施方案中,所述单克隆抗体是Ab1620。

[0238] 在一些实施方案中,所述再活化肽可以将突变型p53再活化至具有与野生型p53蛋白相似或相同的结构性质、生化性质、生理性质和/或功能性质。

[0239] 根据一些实施方案,提供了突变型p53再活化肽,其中所述肽长度为约3-25个氨基酸。在一些实施方案中,所述突变型p53再活化肽长度为约4-15个氨基酸。在一些实施方案中,所述突变型p53再活化肽长度为约7-12个氨基酸。在一些实施方案中,所述突变型p53再活化肽长度为12个氨基酸。每种可能代表本发明的一个单独的实施方案。

[0240] 在本申请全文中描述了其它肽长度。每种可能代表本发明的一个单独的实施方案。

[0241] 根据一些实施方案,突变型p53再活化肽可以影响突变型p53,使其可以反式活化在其启动子上具有野生型p53结合元件的报道基因(诸如荧光素酶)。在一些实施方案中,报道基因的反式活化可以在体外(例如在试管或孔中)或在体内,在具有报道基因构建体的细胞内进行。

[0242] 根据一些实施方案,突变型p53再活化肽可以结合至突变型p53的DNA结合结构域(DBD)。在一些实施方案中,突变型p53在其DNA结合结构域(DBD)中带有突变。

[0243] 如本文使用的术语“药物组合物”是指包含至少一种药物活性成分的任何组合物。

[0244] 如本文使用的术语“与突变型p53蛋白相关”是指由突变型p53蛋白引起的,或其进展涉及突变型p53蛋白在细胞或器官中的存在的任何疾病、病症或病况。

[0245] 应当理解,因为p53从两个等位基因表达,细胞内p53总含量可以为野生型(wt/wt)、野生型和突变型p53的混合物(wt/mut),或仅突变型p53(当两个等位基因均突变(mut/mut),或一个等位基因缺失(mut/-)时)。在癌症中,情况通常是wt/mut、mut/mut或mut/-。因为p53作为四聚体起作用,突变型p53蛋白使确实存在于癌细胞中的野生型p53蛋白的活性被废除。因此,本发明提供的肽特别可用于治疗癌症。值得注意的是,细胞可以具有多于2个p53等位基因,其中至少一个是突变型p53。

[0246] 如本文使用的术语“治疗有效量”是指含有根据本发明的肽的组合物的量,所述量足以降低、减少和/或抑制个体内的疾病、病症或病况。

[0247] 根据本发明的一个方面,提供了治疗与突变型p53蛋白相关的疾病、病症或病况的方法,其包括向有此需要的对象施用治疗有效量的如本文所述的分离肽(例如SEQ ID NO:8、412-464),从而治疗所述疾病、病症或病况。

[0248] 根据本发明的一个方面,提供了治疗与突变型p53蛋白相关的疾病、病症或病况的方法,其包括向有此需要的对象施用治疗有效量的包含氨基酸序列的分离肽,所述氨基酸

序列具有的空间和构型上允许所述肽与p53的DNA结合结构域(DBD)以如pCAP 250 (SEQ ID NO: 1)结合DBD的相同方式进行结合,其中所述肽至少部分地将突变型p53蛋白再活化,且其中所述治疗有效量是每天0.01-0.3 mg/kg或每天0.01-0.2 mg/kg(例如每天0.01-0.35 mg/kg、每天0.01-0.35 mg/kg、每天0.01-0.15 mg/kg、每天0.01-0.1 mg/kg、每天0.01-0.095 mg/kg、每天0.01-0.09 mg/kg、每天0.01-0.085 mg/kg、每天0.01-0.08 mg/kg、每天0.01-0.075 mg/kg、每天0.01-0.07 mg/kg、每天0.01-0.065 mg/kg、每天0.01-0.06 mg/kg、每天0.01-0.055 mg/kg、每天0.01-0.05 mg/kg、每天0.01-0.45 mg/kg、每天0.01-0.04 mg/kg、每天0.01-0.035 mg/kg、每天0.01-0.03 mg/kg),从而治疗所述疾病、病症或病况。

[0249] 如本文提及的,术语“治疗疾病”或“治疗病况”涉及施用包括至少一种药剂的组合物,其有效缓解与疾病相关的症状,减轻所述疾病的严重性或治愈所述疾病,或防止对象中发生所述疾病。施用可以包括任何施用途径。在一些实施方案中,所述疾病是由突变型p53在细胞、组织、器官、体内等中的存在引起或涉及突变型p53在细胞、组织、器官、体内等中的存在的疾病。在一些实施方案中,所述疾病是癌症。在一些实施方案中,所述癌症选自乳腺癌、结肠癌、卵巢癌和肺癌。

[0250] 在一些实施方案中,所述癌症是转移性癌症。

[0251] 在一些实施方案中,所述癌症是转移性乳腺癌、转移性结肠癌、转移性卵巢癌或转移性肺癌。

[0252] 每种可能代表本发明的一个单独的实施方案。在一些实施方案中,所述对象是哺乳动物,诸如人。在一些实施方案中,所述对象是哺乳动物。在一些实施方案中,所述对象是非哺乳动物。在一些实施方案中,所述对象被诊断患有所述疾病、病况或病症。

[0253] 在一些实施方案中,癌症是肾上腺皮质癌、肛门癌、膀胱癌、脑肿瘤、脑干神经胶质瘤、脑肿瘤、小脑星形细胞瘤、脑星形细胞瘤、室管膜瘤、成神经管细胞瘤、幕上原始神经外胚层、松果体瘤、下丘脑胶质瘤、乳腺癌、类癌瘤、癌、宫颈癌、结肠癌、子宫内膜癌、食道癌、肝外胆管癌、尤因家族肿瘤(pnet)、颅外生殖细胞肿瘤、眼癌、眼内黑色素瘤、胆囊癌、胃癌、生殖细胞瘤、性腺外,妊娠滋养细胞肿瘤、头颈癌、下咽癌、胰岛细胞癌、喉癌、白血病、急性淋巴细胞,白血病、口腔癌、肝癌、肺癌、小细胞,淋巴瘤、AIDS相关,淋巴瘤、中枢神经系统(原发),淋巴瘤、皮肤T细胞,淋巴瘤、霍奇金氏病、非霍奇金氏病、恶性间皮瘤、黑色素瘤、梅克尔细胞癌、转移性鳞状细胞癌、多发性骨髓瘤、浆细胞瘤、蕈样肉芽肿病、骨髓增生异常综合征、骨髓增生性病症、鼻咽癌、神经母细胞瘤、口咽癌、骨肉瘤、卵巢上皮癌、卵巢生殖细胞肿瘤、卵巢低恶性潜能肿瘤、胰腺癌、外分泌,胰腺癌、胰岛细胞癌、副鼻窦和鼻腔癌、甲状腺癌、阴茎癌、嗜铬细胞瘤癌、垂体癌、浆细胞肿瘤、前列腺癌、横纹肌肉瘤、直肠癌、肾细胞癌、唾液腺癌、塞扎里综合征、皮肤癌、皮肤T细胞淋巴瘤、皮肤癌、卡波西肉瘤、皮肤癌、黑色素瘤、小肠癌、软组织肉瘤、软组织肉瘤、睾丸癌、胸腺瘤、恶性,甲状腺癌、尿道癌、子宫癌、肉瘤、儿童期的罕见癌症、阴道癌、外阴癌或维尔姆斯氏瘤。

[0254] 在一些实施方案中,所述癌症是肺癌。

[0255] 在一些实施方案中,所述癌症是卵巢癌。

[0256] 在一些实施方案中,所述癌症是三阴性乳腺癌。

[0257] 在一些实施方案中,所述癌症是转移性肺癌。

[0258] 在一些实施方案中,所述癌症是转移性卵巢癌。

[0259] 在一些实施方案中,所述癌症是转移性三阴性乳腺癌。

[0260] 在一些实施方案中,癌症是非实体瘤诸如血癌。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是白血病或淋巴瘤。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是急性淋巴细胞白血病(ALL)。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是急性骨髓性白血病(AML)。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是慢性淋巴细胞白血病(CLL)。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是小淋巴细胞淋巴瘤(SLL)。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是慢性骨髓性白血病(CML)。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是急性单核细胞白血病(AMOL)。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是霍奇金氏淋巴瘤(四种亚型中任一种)。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是非霍奇金氏淋巴瘤(亚型中任一种)。在另一个实施方案中,非实体瘤或血癌是骨髓性白血病。

[0261] 对于在本发明的方法中的应用,可以使用一种或多种药学上可接受的载体、稳定剂或赋形剂(媒介物),以常规方式配制所述再活化肽,以形成药物组合物,如本领域中已知的,特别是关于蛋白活性剂。载体在与组合物的其他成分相容且对其受体无害的意义上是“可接受的”。合适的载体通常包括生理盐水或乙醇多元醇诸如甘油或丙二醇。

[0262] 所述再活化肽可以配制为中性或盐形式。药学上可接受的盐包括酸加成盐(与游离氨基形成),并且其是与无机酸诸如盐酸或磷酸,或此类有机酸诸如乙酸、草酸、酒石酸和马来酸形成。与游离羧基形成的盐也可以衍生自无机碱诸如氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化铵、氢氧化钙或氢氧化铁,和有机碱诸如异丙胺、三甲胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸和普鲁卡因。

[0263] 所述组合物可以合适地配制用于静脉内、肌内、皮下或腹膜内施用,且方便地包含所述再活化肽的无菌水溶液,其优选与受体的血液等渗。此类制剂通常通过以下制备:将固体活性成分溶解于含有生理上相容的物质诸如氯化钠、甘氨酸等且具有与生理条件相容的缓冲pH的水中以产生水溶液,且使得所述溶液无菌。这些可以制备于单位剂量或多剂量容器(例如,密封的安瓿或小瓶)中。

[0264] 所述组合物可以并入稳定剂,诸如例如聚乙二醇、蛋白、糖类(例如海藻糖)、氨基酸、无机酸及其混合物。稳定剂在水溶液中以适当的浓度和pH使用。将该水溶液的pH调整至5.0-9.0的范围内,优选6-8的范围内。在配制再活化肽中,可以使用抗吸附剂。其他合适的赋形剂可以通常包括抗氧化剂诸如抗坏血酸。

[0265] 所述组合物可以配制为控释制剂,其可以通过使用聚合物来复合或吸附蛋白而实现。用于控释制剂的适当聚合物包括例如聚酯、聚氨基酸、聚乙烯,吡咯烷酮、乙烯乙酸乙烯酯和甲基纤维素。用于控释的另一种可能方法是将再活化肽并入聚合物材料(诸如聚酯、聚氨基酸、水凝胶、聚(乳酸)或乙烯乙酸乙烯酯共聚物)的颗粒中。或者,代替将这些试剂并入聚合颗粒中,可将这些材料捕获到微胶囊中,例如分别通过凝聚技术或通过界面聚合制备的微胶囊,例如羟甲基纤维素或明胶微胶囊和聚(甲基丙烯酸甲酯)微胶囊,或捕获到胶体药物递送系统、例如脂质体、白蛋白微球、微乳剂、纳米颗粒和纳米胶囊中或大乳剂(macroemulsions)中。

[0266] 在一些实施方案中,本发明的再活化肽可以配制于经口或口服组合物中,并且在一些实施方案中,包含液体溶液、乳液、悬浮液等。在一些实施方案中,适合用于制备此类组合物的药学上可接受的载体是本领域中熟知的。在一些实施方案中,液体口服组合物包含

约0.001%至约0.9%的再活化肽,或在另一个实施方案中,约0.01%至约10%的再活化肽。

[0267] 在一些实施方案中,用于在本发明的方法中使用的组合物包含溶液或乳液,其在一些实施方案中是包含安全和有效量的再活化肽和任选其他化合物的水溶液或乳液,其意欲用于局部鼻内施用。

[0268] 在一些实施方案中,本发明的可注射溶液配制于水溶液中。在一个实施方案中,本发明的可注射溶液配制于生理上相容的缓冲液诸如Hank氏溶液、林格氏溶液或生理盐缓冲液中。在一些实施方案中,对于经粘膜施用,在制剂中使用适于待渗透的屏障的渗透剂。此类渗透剂是本领域中通常已知的。

[0269] 在一个实施方案中,本文所述的制剂配制用于肠胃外施用,例如通过推注注射或连续输注。在一些实施方案中,用于注射的制剂以单位剂量形式呈现,例如安瓿中或多剂量容器中,并且任选地具有添加的防腐剂。在一些实施方案中,组合物是油性或水性媒介物中的悬浮液、溶液或乳液,且含有配制剂诸如悬浮剂、稳定剂和/或分散剂。

[0270] 本发明的再活化肽可以通过任何合适的施用途径进行施用,所述施用途径选自口服、局部、经皮或肠胃外施用。根据一些实施方案,所述施用途径是经由选自真皮、阴道、直肠、吸入、鼻内、经眼、经耳和经颊的局部应用。根据一些实施方案,所述施用途径是经由肠胃外注射。在各个实施方案中,施用步骤通过选自以下的肠胃外途径实施:静脉内、肌内、皮下、皮内、腹膜内、动脉内、脑内、脑室内、骨内和鞘内。例如,所述再活化肽可以全身施用,例如,通过肠胃外途径,诸如,腹膜内(i.p.)、静脉内(i.v.)、皮下或肌内途径。本发明的再活化肽和/或任何任选的额外药剂可以全身施用,例如,通过鼻内施用。本发明的再活化肽和/或任何任选的额外药剂可以全身施用,例如,通过口服施用,通过使用能够为蛋白提供口服生物利用度的特定组合物或制剂。本发明的再活化肽和/或任何任选的额外药剂可以局部施用。

[0271] 根据具体的实施方案,施用包括皮下施用。

[0272] 可选或另外地,根据具体的实施方案,施用包括连续输注。

[0273] 因此,所述再活化肽(例如SEQ ID NO: 1、8或412-464或429、448、449、446、462)还可以通过慢释递送系统、泵和用于连续输注的其它已知递送系统以例如以下剂量递送:例如每天0.01-0.3 mg/kg、每天0.01-0.15 mg/kg、每天0.01-0.1 mg/kg、每天0.01-0.095 mg/kg、每天0.01-0.09 mg/kg、每天0.01-0.085 mg/kg、每天0.01-0.08 mg/kg、每天0.01-0.075 mg/kg、每天0.01-0.07 mg/kg、每天0.01-0.065 mg/kg、每天0.01-0.06 mg/kg、每天0.01-0.055 mg/kg、每天0.01-0.05 mg/kg、每天0.01-0.45 mg/kg、每天0.01-0.04 mg/kg、每天0.01-0.035 mg/kg、每天0.01-0.03 mg/kg)。可以改变给药方案以基于其药代动力学提供特定再活化肽的循环水平。因此,计算剂量,从而维持治疗剂的期望的循环水平。

[0274] 通常,通过再活化肽的活性和对象的状况以及待治疗的对象的体重或表面积确定有效剂量。还通过伴随在具体对象中施用再活化肽的任何不良副作用的存在、性质和程度来确定剂量大小和给药方案。

[0275] 在一些实施方案中,提供用于治疗或预防p53相关病况的药剂盒。在一些实施方案中,所述药剂盒包含容器(例如小瓶),其包含在合适的缓冲液中的Mut-p53再活化肽,和用于施用所述再活化肽的使用说明。

[0276] 提出,当与黄金标准治疗(例如抗癌疗法)组合时,可以提高使用本发明的肽的治

疗的功效。因此,可以单独或与用于此类病症的其它既定的或实验性治疗方案组合使用所述肽,用于治疗与p53相关的疾病或病症(如上文所述)。可理解,使用另外的治疗方法或组合物的治疗具有显著降低此类治疗的有效临床剂量的潜力,从而降低所述治疗的通常为破坏性的副作用和高成本。

[0277] 适合与本发明的一些实施方案的肽或编码其的多核苷酸组合的治疗癌症的治疗方案包括,但不限于化学疗法、放疗、光疗和光动力疗法、手术、营养疗法、消融疗法、放疗和化学疗法的组合、近距离放射治疗、质子束疗法、免疫疗法、细胞疗法和光子束放射外科疗法。根据具体的实施方案,所述化学疗法是基于铂的。

[0278] 抗癌药物

[0279] 可以与本发明的化合物共施用的抗癌药物包括但不限于:阿西维辛;阿柔比星;盐酸阿考达唑;阿克罗宁;阿霉素;阿多来新;阿地白介素;六甲蜜胺;安波霉素;醋酸阿美蒽醌;氨鲁米特;安吖啶;阿那曲唑;氨茴霉素;天冬酰胺酶;曲林菌素;阿扎胞苷;阿扎替派;阿佐霉素;巴马司他;苯佐替哌;比卡鲁胺;盐酸比生群;二甲磺酸双奈法德(Bisnafide Dimesylate);比折来新;硫酸博来霉素;布列奎钠(Brequinar Sodium);溴匹立明;白消安;放线菌素C;卡普睾酮;卡醋胺;卡贝替姆;卡铂;卡莫司汀;盐酸卡柔比星;卡折来新;西地芬戈;苯丁酸氮芥;西罗里霉素;顺铂;克拉屈滨;甲磺酸克立那托;环磷酰胺;阿糖胞苷;达卡巴嗪;更生霉素;盐酸柔红霉素;地西他滨;右奥马铂;地扎呱宁;甲磺酸地扎呱宁;地吖啶;多西他赛;阿霉素;盐酸阿霉素;屈洛昔芬;柠檬酸屈洛昔芬;丙酸甲雄烷酮;达佐霉素;依达曲沙;盐酸艾佛鸟氨酸;依沙芦星;恩络铂;恩普氨酯;依匹哌啶;盐酸表阿霉素;厄布洛唑;盐酸依索比星;雌莫司汀;雌莫司汀磷酸钠;依他硝唑;依托泊苷;磷酸依托泊苷;氯苯乙嘧胺(Etoprine);盐酸法哌唑;法扎拉滨;维甲酰酚胺;氟尿苷;磷酸氟达拉滨;氟尿嘧啶;氟环胞苷;磷喹酮;福司曲星钠;吉西他滨;盐酸吉西他滨;羟基脲;盐酸伊达比星;异环磷酰胺;依莫佛新;干扰素 $\alpha$ -2a;干扰素 $\alpha$ -2b;干扰素 $\alpha$ -n1;干扰素 $\alpha$ -n3;干扰素 $\beta$ -Ia;干扰素 $\gamma$ -Ib;异丙铂;盐酸伊立替康;醋酸兰瑞肽;来曲唑;醋酸亮丙瑞林;盐酸利阿唑;洛美曲索钠;环己亚硝脲;盐酸洛索蒽醌;马索罗酚;美登素;盐酸氮芥;醋酸甲地孕酮;醋酸美仑孕酮;美法仑;美诺立尔;巯嘌呤;甲氨蝶呤;甲氨蝶呤钠;氯苯氨啶;美妥替哌(Meturedopa);米汀度胺;米托卡星(mitocarcin);丝裂红素;丝林霉素;丝裂马菌素;丝裂霉素;丝裂帕菌素;米托坦;盐酸米托蒽醌;霉酚酸;诺考达唑(Nocodazole);诺加霉素;奥马铂;奥昔舒仑(Oxisuran);紫杉醇;培加帕酶;培利霉素;戊氮芥;硫酸培洛霉素;培磷酰胺;哌泊溴烷;哌泊舒凡;盐酸吡罗蒽醌;普卡霉素;普洛美坦;叶粉姆钠;紫菜霉素;松龙苯芥;盐酸丙卡巴肼;嘌呤霉素;盐酸嘌呤霉素;吡唑呋喃菌素;利波腺苷;吡鲁米特;沙芬戈;盐酸沙芬戈;司莫司汀;辛曲秦;司泊索非钠(Sparfosate Sodium);稀疏霉素(Sparsomycin);盐酸锗螺胺;螺旋氮芥;螺铂;链黑霉素;链脲佐菌素;磺氯苯脲;他利霉素;紫杉醇;替可加兰钠(Tecogalan Sodium);替加氟;盐酸替洛蒽醌;替莫泊芬;替尼泊苷;替罗昔隆;睾内酯;硫咪嘌呤;硫鸟嘌呤;噻替哌;噻唑呋林(Tiazofuirin);替拉扎明;盐酸拓扑替康;柠檬酸托瑞米芬;醋酸曲托龙;磷酸曲西瑞宾;三甲曲沙(Trimetrexate);三甲曲沙葡萄糖醛酯;曲普瑞林;盐酸妥布氯唑;尿嘧啶氮芥;乌瑞替哌(Uredopa);伐普肽;维替泊芬;硫酸长春碱;硫酸长春新碱;长春地辛;硫酸长春地辛;硫酸长春匹定;硫酸长春甘酯;硫酸长春罗辛;酒石酸长春瑞滨;硫酸长春罗定;硫酸长春利定;伏氯唑;折尼铂;净司他丁;盐酸佐柔比星。另外的抗肿

瘤药包括在Antineoplastic Agents, 第52章(Paul Calabresi and Bruce A. Chabner)中公开的那些, 和在Goodman and Gilman's "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Eighth Edition, 1990, McGraw-Hill, Inc. (Health Professions Division) 中公开的那些。

[0280] 根据本发明的另一个方面, 提供了治疗与突变型p53蛋白相关的疾病、病症或病况的方法, 其包括向有此需要的对象施用治疗有效量的基于铂的化学疗法和包含氨基酸序列的分离肽, 所述氨基酸序列具有的空间和构型允许所述肽与p53的DNA结合结构域(DBD) 以如pCAP 250 (SEQ ID NO: 1) 结合所述DBD的相同方式进行结合(例如SEQ ID NO: 1、8、412-464、429、448、449、446、462), 其中所述肽至少部分地将突变型p53蛋白再活化, 从而治疗所述疾病、病症或病况。

[0281] 基于铂的化学疗法的具体实例包括但不限于顺铂(首先被开发的), 卡铂(第二代基于铂的抗肿瘤药), 奥沙利铂、赛特铂、吡铂、奈达铂、三核铂(Triplatin)、Lipoplatin(顺铂的脂质体版本)。

[0282] 用于实现如本文所述的组合治疗(例如所述肽连同基于铂的化学疗法)的试剂盒和物品或产品也在本文预期中。

[0283] 应理解, 包含选自59-382的氨基酸序列的肽也可以在上述方法中实施。

[0284] 如本文使用, 术语“约”是指±10%。

[0285] 术语“包含”、“包括”、“具有”和它们的同源词是指“包括但不限于”。

[0286] 术语“由……组成”是指“包括且限于”。

[0287] 术语“基本上由……组成”是指所述组合物、方法或结构可以包括另外的成分、步骤和/或部分, 但只有所述另外的成分、步骤和/或部分不实质上改变要求保护的组合物、方法或结构的基本和新颖的特征的情况。

[0288] 除非上下文另有明确说明, 如本文使用的单数形式“一个/种”和“所述”包括复数引用物。例如, 术语“化合物”或“至少一种化合物”可以包括多种化合物, 包括其混合物。

[0289] 贯穿本申请, 本发明的各种实施方案可以以范围形式呈现。应当理解, 以范围形式的描述仅仅为了便利和简洁, 而不应当被解释为对本发明的范围的严格限定。因此, 范围的描述应当被理解为已经具体公开了所有可能的子范围以及在该范围内的单一数值。例如, 范围的描述诸如1至6应当被理解为具有具体公开的子范围诸如1至3, 1至4, 1至5, 2至4, 2至6, 3至6等, 以及在该范围内的单独数值, 例如1、2、3、4、5和6。不论范围的幅度如何都适用。

[0290] 在本文指定的任何数值范围, 均意为包括在指定范围内的任何引用的数字(分数或整数)。短语第一指定数和第二指定数“之间的范围”, 和“范围从”第一指定数“到”第二指定数, 在本文中可互换使用, 并且意为包括第一指定数和第二指定数以及在其间的全部分数和整数。

[0291] 如本文使用的术语“方法”是指用于完成给出的任务的方式、手段、技术和程序, 包括但不限于化学、药理学、生物学、生物化学和医学领域实践者已知的, 或容易从已知的方式、手段、技术和程序发展的那些方式、手段、技术和程序。

[0292] 如本文使用的, 术语“治疗”包括终止、基本上抑制、减缓或反转病况的进程, 基本上缓解病况的临床或审美症状或基本上预防病况的临床或审美症状的出现。

[0293] 当参考具体的序列表时, 这样的参考应当被理解为还涵盖基本对应于其互补序列

的序列,同时包括较少的序列变异,其例如由测序错误、克隆错误或引起碱基取代、碱基缺失或碱基添加的其它变化而导致,前提是此类变异的频率小于50个核苷酸中1个,可选地,小于100个核苷酸中1个,可选地,小于200个核苷酸中1个,可选地,小于500个核苷酸中1个,可选地,小于1000个核苷酸中1个,可选地,小于5,000个核苷酸中1个,可选地,小于10,000个核苷酸中1个。

[0294] 应理解,出于清楚的目的而在分开的实施方案的上下文中描述的本发明的某些特征,也可以提供在单一实施方案的组合中。反之,出于简洁的目的而在单一实施方案的上下文中描述的本发明的各种特征,也可以被分开提供,或提供在任何合适的亚组合中,或合适地,提供在本发明的任何其它描述的实施方案中。各种实施方案的上下文中描述的特定特征不被认为是那些实施方案的关键特征,除非所述实施方案没有那些要素则无法操作。

[0295] 如上文描述的以及如下文权利要求书部分要求保护的本发明的各种实施方案和方面在以下实施例中得到实验支持。

## 实施例

[0296] 现参考以下实例,其与上文的说明一起以非限制性的方式阐明本发明。

[0297] 通常,本文使用的术语和在本发明中利用的实验室程序包括分子、生化、微生物和重组DNA技术。这些技术在文献中得到透彻解释。参见例如,“Molecular Cloning: A laboratory Manual” Sambrook等人, (1989); “Current Protocols in Molecular Biology” Volumes I-III Ausubel, R. M., ed. (1994); Ausubel等人, “Current Protocols in Molecular Biology”, John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989); Perbal, “A Practical Guide to Molecular Cloning”等人, John Wiley & Sons, New York (1988); Watson等人, “Recombinant DNA”, Scientific American Books, New York; Birren等人(eds) “Genome Analysis: A Laboratory Manual Series”, Vols. 1-4, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1998); 如在以下中所述的方法:美国专利号4,666,828; 4,683,202; 4,801,531; 5,192,659和5,272,057; “Cell Biology: A Laboratory Handbook”, Volumes I-III Cellis, J. E., ed. (1994); “Current Protocols in Immunology”等人Volumes I-III Coligan J. E., ed. (1994); Stites 等人 (eds), “Basic and Clinical Immunology”(第8版), Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994); Mishell和Shiigi (eds), “Selected Methods in Cellular Immunology”, W. H. Freeman and Co., New York (1980); 可获得的免疫测定被广泛描述于专利和科学文献中,参见例如,美国专利号3,791,932; 3,839,153; 3,850,752; 3,850,578; 3,853,987; 3,867,517; 3,879,262; 3,901,654; 3,935,074; 3,984,533; 3,996,345; 4,034,074; 4,098,876; 4,879,219; 5,011,771和5,281,521; “Oligonucleotide Synthesis” Gait, M. J., ed. (1984); “Nucleic Acid Hybridization” Hames, B. D., 和 Higgins S. J., eds. (1985); “Transcription and Translation” Hames, B. D., 和 Higgins S. J., Eds. (1984); “Animal Cell Culture” Freshney, R. I., ed. (1986); “Immobilized Cells and Enzymes” IRL Press, (1986); “A Practical Guide to Molecular Cloning” Perbal, B., (1984) 和”Methods in Enzymology” Vol. 1-317, Academic Press; “PCR Protocols: A Guide To

Methods And Applications”, Academic Press, San Diego, CA (1990); Marshak等人, “Strategies for Protein Purification and Characterization - A Laboratory Course Manual” CSHL Press (1996); 其全部通过引用并入,如同完全在本文中阐述。本文全文提供了其它的一般参考文件。相信在其中的程序是本领域熟知的并且为了方便读者而提供。在其中所含的全部信息通过引用并入本文。

[0298] 实验程序

[0299] 结晶紫生存力测定

[0300] 在96孔板中以2500-4000个细胞/孔培养细胞。添加不同肽的系列稀释物,并且将板在37°C另外温育48h。随后将培养基移除,并通过使用在甲醇/PBS (1:5, v/v) 中的结晶紫(0.05%)将细胞染色10分钟,随后使用PBS洗涤3次,来测定细胞生存力。向每孔添加10%乙酸,进行10分钟。在595 nm测定OD。

[0301] ChIP分析

[0302] 在室温下,使用甲醛(1%终浓度)交联细胞10分钟。使用0.25M甘氨酸中和甲醛5分钟。使用10ml冰冷的PBS洗涤细胞两次,并通过刮落收集。最终,将细胞重悬于0.3ml的裂解缓冲液(1% SDS、10mM EDTA、50mM Tris-HCl、pH 8.1,蛋白酶抑制剂混合物),并且在超声浴中超声处理6分钟,随后在冰上离心10分钟以产生200-500bp片段。收集上清液并且在ChIP稀释缓冲液(1% Triton X-100、2 mM EDTA、150 mM NaCl、20 mM Tris-HCl, pH 8.1)中稀释10次,随后在4°C,使用具有2μg剪切的鲑鱼精DNA和10μg BSA的40μl预阻断蛋白A-琼脂糖进行免疫清除2小时。在4°C下,使用特异性αp53或αRNAPo1II多克隆抗体,进行免疫沉淀过夜。在免疫沉淀后,添加40 μl蛋白A-琼脂糖并进一步温育另外1小时。依次在TSE I (0.1% SDS、1% Triton X-100、2 mM EDTA、20 mM Tris-HCl, pH 8.1, 150 mM NaCl)、TSE II (500 mM NaCl) 和缓冲液III (0.25 M LiCl、1% NP-40、1%脱氧胆酸盐、1 mM EDTA、10 mM Tris-HCl, pH 8.1) 中洗涤沉淀物。使用TE缓冲液将沉淀物洗涤三次并使用1% SDS, 0.1 M NaHCO<sub>3</sub>, 萃取两次。合并洗出液并且在65°C加热过夜以逆转甲醛交联。使用QIAquick Spin Kit (Qiagen, CA) 纯化DNA片段。一式三份执行免疫沉淀反应。以单独的珠子充当非特异性对照。通过定量RT-PCR评估来自克隆的ChIP产物中的活性和抑制性组蛋白标记的定量分析。为了将免疫沉淀反应(IP)的功效归一化,使用necdin启动子区域和5'区域的特异性引物完成染色质IP的归一化。

[0303] CRISPR p53敲除

[0304] 质粒#42230,含有TP53外显子3单向导RNA (sgRNA),来自Addgene。根据生产商的方案,使用jetPEI试剂(Polyplus)转染ES2细胞。在48小时后,在96孔板中接种细胞作为单细胞克隆。扩增单细胞克隆并且使用D0-1抗-p53抗体,通过蛋白质印记分析检验它们的p53状态。

[0305] sgRNA序列:

[0306] F: 5'-CACCGCCATTGTTCAATATCGTCCG-3' (SEQ ID NO:47)

[0307] R: 5'-AACCGGACGATATTGAACAATGG-3' (SEQ ID NO:48)。

[0308] 肽的临床前测试

[0309] 将2x10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup>个细胞皮下注射至小鼠(6周龄无胸腺裸鼠)的各个股骨。在这些实验中采用的全部细胞系稳定表达荧光素酶报道基因,以能够通过活体成像监控肿瘤生长。4-

18天后,当肿瘤达到可视大小,将小鼠随机分配至几个组:对照组,使用任一单个对照肽处理,和使用有效肽(任一单个肽)处理的组。通过一周三次在40 $\mu$ l PBS中10 $\mu$ g肽/肿瘤的瘤内注射,或通过Alzet微型泵0.8mg进行两周来施用肽。使用IVIS2000系统,通过活体成像测量随时间的肿瘤生长。将暴露时间校准至20秒。在8分钟内获得16张图像,并且对每个肿瘤获取峰发光值。实验进行至肿瘤达到1cm<sup>3</sup>的最大允许大小,在此时将小鼠处死并且将肿瘤取出,测量并称重。

[0310] RT-PCR

[0311] 根据制造商的方案,使用Macherey-Nagel NucleoSpin RNA II试剂盒,从细胞沉淀物获得RNA。使用Bio-RT 2000 (Bio-Lab) 和随机六聚体引物,对0.4-1  $\mu$ g的等分试样进行反转录。使用SYBR Green FastMix ROX (Quanta) 在ABI 7300仪器(Applied Biosystems) 上执行QRT-PCR。RT-PCR引物(全部引物序列以5'至3'呈现):

[0312] 引物列表

基因	正向引物/ (SEQ ID NO:20-31)	反向引物/ (SEQ ID NO:32-43)
p53	CCCAAGCAATGGATGATTGAA	GGCATTCTGGAGCTTCATCT
p21	GGCAGACCAGCATGACAGATT	GCGGATTAGGGCTTCCTCTT
PUMA	GACCTCAACGCACAGTACGAG	AGGAGTCCCATGATGAGATTGT
MDM2	AGGCAAATGTGCAATACCAACA	GGTTACAGCACCATCAGTAGGTACAG
CD95	ACTGTGACCCTTGCACCAAAT	GCCACCCCCAAGTTAGATCTGG
Btg2	AGGCACTCACAGAGCACTACAAAC	GCCCTTGGACGGCTTTTC
GAPDH	ACCCACTCCTCCACCTTGA	CTGTTGCTGTAGCCAAATTCGT
p21 (ChIP)	GTGGCTCTGATTGGCTTCTG	CTTGGGCTGCCTGTTTCAG
PUMA (ChIP)	GCGAGACTGTGGCCTTGTGTC	ACTTTGTGGACCCCTGGAACG
MDM2 (ChIP)	GGTTGACTCAGCTTCCCTCTTG	TATTAAACCATGCATTTCC
CD95 (ChIP)	GGATAATTAGACGTACGTGGC	GGACAATTGACAAAATCAGTATC
GAPDH (ChIP)	GTATTCCCCCAGGTTACAT	AGGAGTGAGTGGAAAGACAGAA

[0313] NMR

[0314] 用1L NMR缓冲液(含有52.5mM NaCl和2.625mM DTT, pH 7.2的157.5mM磷酸钠缓冲液)透析纯化的15N标记的p53核心结构域1ml 40 $\mu$ M (aa 94-296) 48小时,替换缓冲液并使用1L NMR缓冲液透析样品另外24-48小时(总共72小时)。对0.5 ml样品进行高分辨NMR。在魏茨曼科学研究所(Weizmann Institute of Science) 进行NMR分析。

[0315] 在293 K,记录15N-p53自身,以及当如与指定的肽复合时的二维1H-15N异核单量子相干(HSQC) 谱。在装配有5 mm反式检测三重共振CryoProbe (TCI) 的Bruker AVIII-800 NMR谱仪上获得谱。使用WATERGATE序列实现溶剂抑制。

[0316] 实施例1:pCAP-250与顺铂协同降低ES2卵巢癌细胞的生存力

[0317] 在96孔板中以3000个细胞/孔培养ES2细胞。将pCAP-250的系列稀释物单独或与1 $\mu$ g/ml顺铂一起添加,并将板在37°C 另外温育48h。随后将培养基移除,并通过使用在甲醇/PBS (1:5, v/v) 中的结晶紫(0.05%) 将细胞染色10分钟,随后使用PBS洗涤3次,来测定细胞生存力。向每孔添加10%乙酸,进行10分钟。在595 nm测定OD。使用1 $\mu$ g/ml处理的ES2细胞的生存力为39%。估计pCAP-250的IC50为3.2 $\mu$ M并且与顺铂组合的pCAP-250的IC50估计为1.9 $\mu$

M,表明两种化合物之间的协同效应。

[0318] 图1显示了实验的结果。明显地,癌症细胞的生存力在pCAP 250存在下显著降低。通过pCAP 250与基于铂的化学疗法的组合治疗,观察到协同作用。

[0319] 实施例2:pCAP-250和不同衍生物的活性的表征

[0320] 将表达内源mp53S241F的ES2 Con细胞,和其中使用CRISPR/Cas9将p53稳定敲除以控制对mutp53的特异性的ES2 KO细胞(ES2 p53KO),以3000个细胞/孔培养在96孔板中。以8 μg/ml的浓度添加指示的肽,并且将板在37°C另外温育48h。随后将培养基移除,并通过使用在甲醇/PBS (1:5, v/v) 中的结晶紫 (0.05%) 将细胞染色10分钟,随后使用PBS洗涤3次,来测定细胞生存力。向每孔添加10%乙酸,进行10分钟。在595 nm测定OD。

[0321] 图2显示了特定肽对ES2 Con相比ES KO的作用的差异,指示肽对mutp53表达的特异性。其中氨基酸(例如丝氨酸和组氨酸)被取代为丙氨酸的数种肽衍生物显示出对ES2 Con细胞的减少的作用,指示这些氨基酸对肽功效的重要性。

[0322] 在如下文所述的亲和结合测定进一步强化了所述结果。

[0323] 实施例3:pCAP 250结合p53 DBD

[0324] 图3A-I和图3K显示了荧光标记的WTp53DBD和pCAP-250的结合的微量热泳分析。根据生产商说明执行实验;制备pCAP-250的10个系列稀释物,向每个肽样品添加标记的蛋白并加载至毛细管。使用不同浓度的pCAP-250,分析样品的荧光WTp53DBD在温度梯度下的运动。微量热泳分析结果以从生产商数据分析软件获得的曲线来呈现。

[0325] 实施例4:药代动力学研究-pCAP 250施用模式和血浆中半衰期

[0326] 图4A-D的结果显示当静脉内施用时,pCAP 250 (SEQ ID NO:1) 具有0.8-1.8小时的血浆半衰期。结果进一步显示当皮下施用时,pCAP 250具有3-8小时的血浆半衰期。

[0327] 实施例5:pCAP-250肽在小鼠异种移植模型中的体内效果

[0328] 图5A-D显示当以0.4mg/kg的剂量一周3次瘤内注射施用时,pCAP 250 (SEQ ID NO: 1) 对卵巢癌异种移植模型中的ES2细胞的肿瘤发育具有显著效果。进一步显示当以每天2.3mg/kg的剂量,通过Alzet微型泵皮下施用时,pCAP 250对卵巢癌异种移植模型中的ES2细胞的肿瘤发育具有显著效果。

[0329] 实施例6:由体外细胞生存力测定确定的pCAP 250肽变体的抗癌症活性

[0330] 表3

SEQ ID NO:	pCAP编号	肽序列
412	483	myr-RRHSTPHPGE
413	485	myr-RRHSTPHPSE
414	488	myr-RRHSTPHPAD
415	489	myr-RRHSTPHPAE
416	504	myr-RRHSSPHPD
417	505	myr-RRHSVPHPD
418	507	myr-RRHSCPSPD
419	513	myr-RRHSSePHPD
420	514	myr-RRHSStPHPD
421	515	myr-RRHSsPHPD

422	516	myr-RRHSvPHPD
423	518	myr-RR (L-DAB) STPHPD
424	519	myr-RRHSTP (L-DAB) PD
425	530	myr-RRHSTPHPDD-ch3
426	541	myr-RRHSTPHAD
427	551	myr-RRHSKPHPD
428	552	myr-RRHSSP (L-DAB) PD
429	553	myr-RRHSvP (L-DAB) PD
430	554	myr-RRHSTP (L-DAB) AD
431	590	myr-RRHSsP (L-DAB) PD
432	594	myr-RRHSKPHPDD-NH2
433	595	myr-RR (L-DAB) STP (L-DAB) PD
434	596	myr-RRHSKP (L-DAB) PD
435	597	myr-RR (L-DAB) SKPHPD
436	598	myr-RR (L-DAB) SKP (L-DAB) PD
437	599	myr-RRHSKPHAD
438	600	myr-RRHSKPHASE
439	601	myr-RRHSKPHPSE
440	602	myr-RR (L-DAB) SsP (L-DAB) PD
441	603	myr-RR (L-DAB) SvP (L-DAB) PD
442	606	myr-RRHSTPHASE
443	607	myr-RRHSkPHPD
444	608	myr-RRHS (L-DAB) PHPD
445	609	myr-RRHS (L-DAB) PHAD
446	610	myr-RRHSEP (L-DAB) PD
447	611	myr-RR (L-DAB) SEPHPD
448	622	myr-RRHSvP (L-DAB) PD-NH2
449	624	myr-RRHST (Aib) HAD
450	630	myr-RRHSTPHPDIEGR
451	632	myr-RRHSTPHPDIEGRGWQRPSSW
452	633	myr-RR (L-DAB) SEP (L-DAB) PD
453	634	myr-RRHSEP (L-DAB) PD-NH2
454	635	myr-RR (L-DAB) SEPHPD
455	636	myr-RRHS (PSER) P (L-DAB) PD
456	637	myr-RRHS (pser) P (L-DAB) PD
457	638	myr-RRHS (PSER) P (L-DAB) PD-NH2
458	639	myr-RRHSKP (L-DAB) PD
459	640	myr-RR (L-DAB) SKPHPD
460	642	myr-RRHSTPHPAH

461	643	myr-RRHSTPHPA (L-DAB)
462	644	myr-RRHSTPHPDH
463	645	myr-RRHSvP (L-DAB) PDH
464	646	myr-RRHSTPHADH

[0331] 表3:53种pCAP-250肽变体的列表。myr代表肉豆蔻酰基,大写字母和小写字母分别代表L-型和D-型氨基酸。L-DAB代表L-型二氨基丁酸。PSER和pser分别代表L-型和D-型磷酸丝氨酸。AIB代表氨基异丁酸。

[0332] 在对两个细胞系的抗肿瘤测定中测试肽。如图7-8所示,指示的肽被赋予抗癌活性,如细胞生存力(结晶紫生存力测定)所确定的。

[0333] 实施例7:pCAP-250-DBD复合物及其肽变体的NMR实验。

[0334] 执行NMR实验 (1H-15N HSQC谱)以评价由pCAP-250肽 (PCAP-250) 与p53 DBD结合所诱导的结构效果。因为先前产生了对WT DBD (SEQ ID NO: 44的94-312) 的残基峰分配 [Wong 等人 同上], 使用WT DBD (94-296, SEQ ID NO: 44) 进行NMR实验,保持如Wong等人 [同上]所述相同的条件。

[0335] 图9显示了由Wong等人(同上)获得的NMR峰分配,连同对游离DBD和DBD-pCAP 250复合物获得的NMR峰图谱。从图9可以看出,总体上,成功再现了Wong等人(同上)的图谱,尽管在两个DBD构建体的C-端长度上存在差异(296相对312)。在游离DBD和DBD-pCAP 250的图谱之间观察到不同强度的许多峰变化,包括一些未分配峰的消失和出现,因此清晰地提供了pCAP 250与WT DBD结合的指示。这些变化在DBD结构上的作图提供了关于被pCAP 250结合所影响的三维结构区的清晰图像。这个区域主要涉及DBD-DNA交界面基序的螺旋-2和L1环,并且其进一步延伸至蛋白的中心区域中(参见图10中的洋红色)。C277和R280是位于螺旋-2的残基的中等峰移动的实例,而对于位于L1环的G117上观察到最剧烈的峰移动(参见图9中的洋红色和棕色圆圈)。

[0336] 有趣的是,最初由Wong等人(同上)观察到的H115和Y126的相对低强度的峰没有在游离DBD上观察到,但是在添加pCAP 250肽后确实出现(参见图10中黄色圆圈)。在峰分配中的如此显著的差异可以被视为由pCAP 250诱导的最主要的峰变化。初始峰的低强度和峰从游离DBD谱的消失指示这些残基位于蛋白质的低稳定性结构区域,其可以采用超过一种优势稳定构象,并且因此对蛋白条件中的小变化高度敏感。实际上,在比较通过NMR解析的DBD结构的前两种低能量构象 (pdb码2FEJ) 时,H115和Y126显示了剧烈的结构重组。值得注意的是,H115和Y126的三维组织紧密接近G117,并且可以直接影响G117,并且这三个残基一同与L1环的结构完整性高度相关(参见图11A-B)。在肽添加后的H115和Y126峰的出现通过使用不同pCAP 250肽变体pCAP-615 (RRHSTP{DAB}PD), SEQ ID NO: 465的额外NMR实验而进一步确认(参见图12)。

[0337] 在具有突变型p53R273H的基于SW-480细胞的测定中,发现pCAP-553 (myr-RRHSvP (L-DAB) PD, v代表D-型缬氨酸, SEQ ID NO: 429) pCAP 250肽变体比P-250的效果强2倍(参见图7)。NMR分析指示pCAP-553 (P553) 倾向于以改善的亲和力结合DBD。这主要反映在与游离DBD比较,对DBD-pCAP 553复合物产生的NMR峰图谱上的7个不同的新的且非常强烈未分配的峰的出现。另外地,对DBD-pCAP 553复合物获得的峰的形状倾向于更加统一和圆,指示P553肽的结合改善了DBD的结构稳定性(参见图13)。

[0338] NMR实验结果提供了pCAP 250及其肽变体明确结合p53蛋白的野生型DBD的证据。这些结果支持了使用MST方法(图3A-I和图3K)的关于pCAP 250与DBD结合的发现。NMR结果进一步指示pCAP 250及其肽变体的结合诱导DBD中的结构变化,其直接影响了DBD-DNA结合界面区(即螺旋-2和L1环结构基序,其对于DBD结合DNA的能力至关重要)的完整性和稳定性。pCAP 250及其肽变体的结合进一步影响了螺旋2和L1环结构基序周围的另外的残基,在DBD表面产生了相对大而明确受影响斑块。

[0339] 尽管已经结合其具体实施方案描述了本发明,但是很明显许多可选方案、修改和变化对本领域技术人员将是显而易见的。因此,旨在涵盖落入所附权利要求书的精神和宽范围中的全部此类可选方案、修改和变化。

[0340] 在本说明书中提及的全部出版物、专利和专利申请以其整体通过引用并入说明书,以如同每个单独的出版物、专利或专利申请被具体或单独指出通过引用并入本文的相同程度。另外,在本申请中的任何参考的引用或鉴定不应当被理解为承认该参考可用作本发明的现有技术。在使用章节标题的范围内,不应当将其解释为必然限定性的。

<110> Yeda Research and Development Co. Ltd.  
 ROTTER, Varda  
 OREN, Moshe  
 TAL, Perry  
 EIZENBERGER, Shay  
 BEN-SHIMON, Avi  
 <120> 肽及其在治疗与突变型p53相关的疾病、病症或病况中的用途  
 <130> 68699  
 <150> US 62/291, 003  
 <151> 2016-02-04  
 <160> 465  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> N端肉豆蔻酰化  
 <400> 1  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
 1 5

[0001] <210> 2  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> N端肉豆蔻酰化  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..(9)  
 <223> 酰胺化c端  
 <400> 2  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
 1 5  
 <210> 3  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <400> 3  
 His Ser Thr Pro His Pro Asp  
 1 5  
 <210> 4  
 <211> 10

<212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成肽  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> N端肉豆蔻酰化

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> DOTA缀合物

<400> 4

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Lys  
1 5 10

<210> 5  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成肽

<400> 5

Arg Arg Ala Ser Thr Pro His Pro Asp  
1 5

<210> 6  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0002]

<220>  
 <223> 合成肽

<400> 6

Arg Arg His Ala Thr Pro His Pro Asp  
1 5

<210> 7  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成肽

<400> 7

Arg Arg His Ser Ala Pro His Pro Asp  
1 5

<210> 8  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成肽

<400> 8

Arg Arg His Ser Thr Ala His Pro Asp  
1 5

<210> 9  
 <211> 9  
 <212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 9

Arg Arg His Ser Thr Pro Ala Pro Asp  
1 5

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 10

Arg Arg His Ser Thr Pro His Ala Asp  
1 5

<210> 11

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 11

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
1 5

<210> 12

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 12

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Ala  
1 5

<210> 13

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 13

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
1 5

<210> 14

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<400> 14

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Cys  
1 5 10

<210> 15

<211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成肽  
  
 <400> 15  
  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Tyr  
 1 5 10  
  
 <210> 16  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成肽  
  
 <400> 16  
  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Lys  
 1 5 10  
  
 <210> 17  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成肽  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> N端肉豆蔻酰化  
  
[0004] <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> 乙酰化C端  
  
 <400> 17  
  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Lys  
 1 5 10  
  
 <210> 18  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成肽  
  
 <400> 18  
  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
 1 5  
  
 <210> 19  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> 合成肽  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> N端肉豆蔻酰化  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<222> (9)..(9)		
<223> 生物素缀合物		
<400> 19		
Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp		
1 5		
<210> 20		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 20		21
cccaagcaat ggatgatttg a		
<210> 21		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 21		21
ggcagaccag catgacagat t		
<210> 22		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
[0005] <400> 22		21
gacctcaacg cacagtacga g		
<210> 23		
<211> 22		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 23		22
aggcaaatgt gcaataccaa ca		
<210> 24		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 24		21
actgtgaccc ttgcacccaa t		
<210> 25		
<211> 24		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 25		24
aggcactcac agagcactac aaac		
<210> 26		
<211> 20		

<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 26		
accacactctt ccacccatgt	20	
<210> 27		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 27		
gtggctctga ttggctttct g	21	
<210> 28		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 28		
gcgagactgt ggccttgtgt c	21	
<210> 29		
<211> 23		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 29		
ggttgactca gctttcctc ttg	23	
<210> 30		
<211> 22		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 30		
ggataattag acgtacgtgg gc	22	
<210> 31		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 31		
gtattcccc aggttacat	20	
<210> 32		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 32		
ggcattctgg gagttcatc t	21	
<210> 33		

<211> 20		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 33		
gcggattagg gcttcctt	20	
<210> 34		
<211> 22		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 34		
aggagtccca tcatgagatt gt	22	
<210> 35		
<211> 26		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 35		
ggttacagca ccatcgttag gtacag	26	
<210> 36		
<211> 21		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
[0007] <220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 36		
gccaccccaa gtttagatctg g	21	
<210> 37		
<211> 18		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 37		
gcccttggac ggctttc	18	
<210> 38		
<211> 22		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 38		
ctgttgctgt agccaaattc gt	22	
<210> 39		
<211> 20		
<212> DNA		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 单链DNA寡核苷酸		
<400> 39		
cttgggctgc ctgtttcag	20	

<210>	40	
<211>	20	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	单链DNA寡核苷酸	
<400>	40	
	actttgtgga ccctggaaacg	20
<210>	41	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	单链DNA寡核苷酸	
<400>	41	
	tattnaaacc atgcatttc c	21
<210>	42	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<220>		
<223>	单链DNA寡核苷酸	
<400>	42	
	ggacaattga caaaaatcgt atc	23
<210>	43	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
[0008]		
<220>		
<223>	单链DNA寡核苷酸	
<400>	43	
	aggagtgtg ggaagacaga a	21
<210>	44	
<211>	393	
<212>	PRT	
<213>	智人	
<400>	44	
Met Glu Glu Pro Gln Ser Asp Pro Ser Val Glu Pro Pro Leu Ser Gln		
1 5 10 15		
Glu Thr Phe Ser Asp Leu Trp Lys Leu Leu Pro Glu Asn Asn Val Leu		
20 25 30		
Ser Pro Leu Pro Ser Gln Ala Met Asp Asp Leu Met Leu Ser Pro Asp		
35 40 45		
Asp Ile Glu Gln Trp Phe Thr Glu Asp Pro Gly Pro Asp Glu Ala Pro		
50 55 60		
Arg Met Pro Glu Ala Ala Pro Arg Val Ala Pro Ala Pro Ala Pro		
65 70 75 80		
Thr Pro Ala Ala Pro Ala Pro Ser Trp Pro Leu Ser Ser Ser		
85 90 95		
Val Pro Ser Gln Lys Thr Tyr Gln Gly Ser Tyr Gly Phe Arg Leu Gly		
100 105 110		
Phe Leu His Ser Gly Thr Ala Lys Ser Val Thr Cys Thr Tyr Ser Pro		
115 120 125		
Ala Leu Asn Lys Met Phe Cys Gln Leu Ala Lys Thr Cys Pro Val Gln		

130	135	140
Leu Trp Val Asp Ser Thr Pro Pro Pro Gly Thr Arg Val Arg Ala Met		
145	150	155
Ala Ile Tyr Lys Gln Ser Gln His Met Thr Glu Val Val Arg Arg Cys		
165	170	175
Pro His His Glu Arg Cys Ser Asp Ser Asp Gly Leu Ala Pro Pro Gln		
180	185	190
His Leu Ile Arg Val Glu Gly Asn Leu Arg Val Glu Tyr Leu Asp Asp		
195	200	205
Arg Asn Thr Phe Arg His Ser Val Val Val Pro Tyr Glu Pro Pro Glu		
210	215	220
Val Gly Ser Asp Cys Thr Thr Ile His Tyr Asn Tyr Met Cys Asn Ser		
225	230	235
Ser Cys Met Gly Gly Met Asn Arg Arg Pro Ile Leu Thr Ile Ile Thr		
245	250	255
Leu Glu Asp Ser Ser Gly Asn Leu Leu Gly Arg Asn Ser Phe Glu Val		
260	265	270
His Val Cys Ala Cys Pro Gly Arg Asp Arg Arg Thr Glu Glu Glu Asn		
275	280	285
Leu Arg Lys Lys Gly Glu Pro His His Glu Leu Pro Pro Gly Ser Thr		
290	295	300
Lys Arg Ala Leu Ser Asn Asn Thr Ser Ser Ser Pro Gln Pro Lys Lys		
305	310	315
Lys Pro Leu Asp Gly Glu Tyr Phe Thr Leu Gln Ile Arg Gly Arg Glu		
325	330	335
[0009] Arg Phe Glu Met Phe Arg Glu Leu Asn Glu Ala Leu Glu Leu Lys Asp		
340	345	350
Ala Gln Ala Gly Lys Glu Pro Gly Gly Ser Arg Ala His Ser Ser His		
355	360	365
Leu Lys Ser Lys Lys Gly Gln Ser Thr Ser Arg His Lys Lys Leu Met		
370	375	380
Phe Lys Thr Glu Gly Pro Asp Ser Asp		
385	390	
<210> 45		
<211> 199		
<212> PRT		
<213> 智人		
<400> 45		
Ser Ser Ser Val Pro Ser Gln Lys Thr Tyr Gln Gly Ser Tyr Gly Phe		
1	5	10
Arg Leu Gly Phe Leu His Ser Gly Thr Ala Lys Ser Val Thr Cys Thr		
20	25	30
Tyr Ser Pro Ala Leu Asn Lys Met Phe Cys Gln Leu Ala Lys Thr Cys		
35	40	45
Pro Val Gln Leu Trp Val Asp Ser Thr Pro Pro Pro Gly Thr Arg Val		
50	55	60
Arg Ala Met Ala Ile Tyr Lys Gln Ser Gln His Met Thr Glu Val Val		
65	70	75
Arg Arg Cys Pro His His Glu Arg Cys Ser Asp Ser Asp Gly Leu Ala		
85	90	95
Pro Pro Gln His Leu Ile Arg Val Glu Gly Asn Leu Arg Val Glu Tyr		

	100	105	110
Leu Asp Asp Arg Asn Thr Phe Arg His Ser Val Val Val Pro Tyr Glu	115	120	125
Pro Pro Glu Val Gly Ser Asp Cys Thr Thr Ile His Tyr Asn Tyr Met	130	135	140
Cys Asn Ser Ser Cys Met Gly Gly Met Asn Arg Arg Pro Ile Leu Thr	145	150	155
Ile Ile Thr Leu Glu Asp Ser Ser Gly Asn Leu Leu Gly Arg Asn Ser	165	170	175
Phe Glu Val His Val Cys Ala Cys Pro Gly Arg Asp Arg Arg Thr Glu	180	185	190
Glu Glu Asn Leu Arg Lys Lys	195		
<210> 46			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 46			
His Ser Ala Pro His Pro	1	5	
<210> 47			
<211> 18			
<212> RNA			
<213> 人工序列			
[0010]			
<220>			
<223> 单向导RNA (sgRNA)			
<400> 47			18
caccggccagc aaacgccc			
<210> 48			
<211> 19			
<212> RNA			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 单向导RNA (sgRNA)			
<400> 48			19
aaccggacga agaacaagg			
<210> 49			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			
<400> 49			
His Ser Ala Pro His Pro	1	5	
<210> 50			
<211> 6			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> 合成肽			

<400> 50

His Ser Glu Pro His Pro  
1 5

<210> 51

<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC\_FEATURE  
<222> (1)..(1)

<223> N端肉豆蔻酰化

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> BSA缀合物

<400> 51

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
1 5

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> N端肉豆蔻酰化

[0011]

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> KLH缀合物

<400> 52

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
1 5

<210> 53

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 合成肽

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(1)

<223> 选自带正电荷的氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (2)..(2)

<223> 选自Ser, Thr, Asn, Gln, Pro, Ala和Gly

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (3)..(3)

<223> 任何氨基酸

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (4)..(4)  
 <223> 选自 $\alpha$  甲基氨基酸和 $\beta$  断裂子氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> 选自带正电荷的氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> 选自 $\alpha$  甲基氨基酸和 $\beta$  断裂子氨基酸

<400> 53

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5

<210> 54  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 合成肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 选自His, Arg和Lys

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (2)..(2)  
 <223> 选自Ser, Thr, Asn, Gln, Pro, Ala和Gly

[0012] <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是任何氨基酸

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (4)..(4)  
 <223> Xaa可以是任何氨基酸

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> 选自His, Arg和Lys

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (6)..(6)  
 <223> Xaa可以是任何氨基酸

<400> 54

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5

<210> 55  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 单链DNA寡核苷酸

<400> 55  
 catgcccaga catgtccttg ctgctgcgaa catgtcccaa catgttgc

47

<210> 56  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> 单链DNA寡核苷酸  
 <400> 56  
 caacatgtt ggacatgttc gcagcagcaa ggacatgtct gggcatg 47  
 <210> 57  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> N端肉豆蔻酰化  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (10)..(10)  
 <223> 叶酸缀合物  
 <400> 57  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Lys  
 1 5 10  
 <210> 58  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
 <220>  
 <223> 合成肽  
**[0013]** <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> N端肉豆蔻酰化  
 <400> 58  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp His Ala Tyr Pro His Ala  
 1 5 10 15  
 <210> 59  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 <223> 肽  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (12)..(21)  
 <223> X= Arg或不存在  
 <400> 59  
 Ile Arg Ile Leu Met Phe Leu Ile Gly Cys Gly Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20  
 <210> 60  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (19)..(28)  
 <223> X=Arg或不存在

<400> 60

Leu Arg Cys Leu Leu Leu Ile Gly Arg Val Gly Arg Lys Lys Arg  
 1 5 10 15

Arg Gln Xaa  
 20 25

<210> 61  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (8)..(17)  
 <223> X=Arg或不存在

<400> 61

Tyr Pro Thr Gln Gly His Leu Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Xaa

[0014] <210> 62  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (13)..(22)  
 <223> X=Arg或不存在

<400> 62

Ser Trp Gln Ala Leu Ala Leu Tyr Ala Ala Gly Trp Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20

<210> 63  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (11)..(20)  
 <223> X=Arg或不存在

<400> 63

Thr Leu Tyr Leu Pro His Trp His Arg His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20

<210> 64  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(16)  
 <223> X=Arg或不存在  
  
 <400> 64  
  
 Ile Arg Gly Arg Ile Ile Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
  
 <210> 65  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (13)..(22)  
 <223> X=Arg或不存在  
  
 <400> 65  
  
 Ser Phe Ile Leu Phe Ile Arg Arg Gly Arg Leu Gly Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
  
 [0015] Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20  
  
 <210> 66  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (13)..(22)  
 <223> X=Arg或不存在  
  
 <400> 66  
  
 His Ser Ser His His Pro Val His Ser Trp Asn Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15  
  
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20  
  
 <210> 67  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (8)..(17)  
 <223> X=Arg或不存在  
  
 <400> 67

His Ala Asn Leu His His Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Xaa

<210> 68  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (11)..(20)  
 <223> X=Arg或不存在

<400> 68

Trp Asn His His Ser Thr Pro His Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa  
 20

<210> 69  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (7)..(16)  
 <223> X=Arg或不存在

<400> 69

His Ser Thr Pro His Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10 15

<210> 70  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(14)  
 <223> X=Arg或不存在

<400> 70

Ser Ile Leu Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
 1 5 10

<210> 71  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (11)..(20)  
 <223> X=Arg或不存在

<400> 71

Tyr Arg Arg Leu Leu Ile Gly Met Met Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa  
20

<210> 72

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (11)..(20)

<223> X=Arg或不存在

<400> 72

Tyr Arg Arg Leu Leu Ile Gly Met Met Trp Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Xaa  
20

<210> 73

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

[0017]

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (8)..(17)

<223> X=Arg或不存在

<400> 73

Phe Pro Gly His Thr Ile His Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
1 5 10 15

Xaa

<210> 74

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(10)

<223> X=Arg或不存在

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (1)..(22)

<223> D-氨基酸肽

<400> 74

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu Arg Gly Arg Arg  
1 5 10 15

Ile Phe Leu Ile Phe Ser  
20

<210> 75

<211> 12

<212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 75

Leu Thr Phe Glu His Tyr Trp Ala Gln Leu Thr Ser  
 1 5 10

<210> 76  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 76

Gly  
 1 5 10

<210> 77  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 77

Asn Pro Asn Thr Tyr Val Pro His Trp Met Arg Gln  
 1 5 10

[0018] <210> 78  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 78

Tyr Arg Arg Leu Leu Ile Gly Met Met Trp  
 1 5 10

<210> 79  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 79

Asp Glu Phe His Ser Phe Tyr Thr Ala Arg Gln Thr Gly  
 1 5 10

<210> 80  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 80

Lys Pro Asp Ser Pro Arg Val  
 1 5

<210> 81  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 81

Pro Pro Tyr Ser Gln Phe Leu Gln Trp Tyr Leu Ser  
 1 5 10

<210> 82  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 82

Ser Glu Phe Pro Arg Ser Trp Asp Met Glu Thr Asn  
 1 5 10

<210> 83  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 83

His Asp Thr His Asn Ala His Val Gly  
 1 5

[0019]

<210> 84  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 84

Trp Ser Glu Tyr Asp Ile Pro Thr Pro Gln Ile Pro Pro  
 1 5 10

<210> 85  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 85

Ser Ile Leu Thr Leu Ser Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

<210> 86  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 86

Ser Cys Arg Cys Arg Leu Arg Gly Asp Arg Gly Asp Arg

1                   5                   10

<210> 87  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 87

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
 1                   5                   10                   15

<210> 88  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 88

Ser Glu Tyr Leu Cys Ser Ser Leu Asp Ala Ala Gly  
 1                   5                   10

<210> 89  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 89

[0020] Gly Glu Ser Phe Val Gln His Val Phe Arg Gln Asn  
 1                   5                   10

<210> 90  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 90

Ser Val His His His Arg Met His Leu Val Ala  
 1                   5                   10

<210> 91  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 91

Gly Arg Arg Arg Phe Cys Met  
 1                   5

<210> 92  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 92

Lys Leu Thr Ile His His His  
1 5

<210> 93  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 93

Phe Gly Ser His His Glu Leu  
1 5

<210> 94  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 94

Gly Thr Val Asp His His Ala  
1 5

<210> 95  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

[0021] <400> 95

Asp Arg Leu Ser Val Phe Leu Phe Ile Met  
1 5 10

<210> 96  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 96

Ala Ile Ser His His Thr Arg  
1 5

<210> 97  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 97

Lys His His Pro Phe Asp His Arg Leu Gly Asn Gln  
1 5 10

<210> 98  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 98

His Ser Ala His His Thr Met  
1 5

<210> 99

<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 99

Glu Leu Gly Leu His Arg His  
1 5

<210> 100

<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 100

Arg Arg Leu Arg Ile Cys Val  
1 5

<210> 101

<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工的

[0022] <220>  
<223> 肽

<400> 101

Val Pro His Ile His Glu Phe Thr Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

<210> 102

<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 102

Pro Leu Thr Leu Ile  
1 5

<210> 103

<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 103

Ser Leu Leu Ile Gly  
1 5

<210> 104

<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 104

Lys Pro Pro Glu Arg  
1 5

<210> 105

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 105

Cys Arg Ile Ile Arg  
1 5

<210> 106

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 106

Ser Phe Ile Leu Ile  
1 5

<210> 107

<211> 5

<212> PRT

[0023] <213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 107

Pro His His His Ser  
1 5

<210> 108

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 108

Glu Phe His Ser  
1

<210> 109

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 109

Arg Leu Arg Arg Leu  
1 5

<210> 110

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 110

Asp Ser Pro Arg  
1

<210> 111  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 111

His Pro Trp Thr His  
1 5

<210> 112  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 112

His Phe Ser His His  
1 5

<210> 113  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 113

Arg Arg Val Ile  
1

<210> 114  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 114

Ile Leu Val Ile  
1

<210> 115  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 115

Arg Arg Ser Arg Ser Asn Glu Asp Val Glu Asp Lys Thr Glu Asp Glu  
1 5 10 15

<210> 116

<211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 116

Arg Arg Ile Arg Ser Gly Gly Lys Asp His Ala Trp Thr Pro Leu His  
 1 5 10 15  
 Glu Asn His

<210> 117  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 117

His Thr Pro His Pro Pro Val Ala Arg Thr Ser Pro Leu Gln Thr Pro  
 1 5 10 15

Arg Arg

<210> 118  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

[0025] <220>  
 <223> 肽

<400> 118

Pro Asp Ser Glu Pro Pro Arg Met Glu Leu Arg Arg Arg  
 1 5 10

<210> 119  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 119

Arg Arg Asp Thr Phe Asp Ile Arg Ile Leu Met Ala Phe  
 1 5 10

<210> 120  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 120

Arg Arg Glu Val Thr Glu Leu His His Thr His Glu Asp Arg Arg  
 1 5 10 15

<210> 121  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 121

Ser Pro Trp Thr His Glu Arg Arg Cys Arg Gln Arg  
1 5 10

<210> 122

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 122

Arg Ser Arg Ser Ser His Leu Arg Asp His Glu Arg Thr His Thr  
1 5 10 15

<210> 123

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 123

Arg Arg Arg Ser Thr Asn Thr Phe Leu Gly Glu Asp Phe Asp Gln  
1 5 10 15

<210> 124

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工的

[0026]

<220>

<223> 肽

<400> 124

Leu Ile Gly Leu Ser Thr Ser Pro Arg Pro Arg Ile Ile Arg  
1 5 10

<210> 125

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 125

Glu Ile Tyr Gly Glu Ser Gly Lys Thr Asp Glu His Ala Leu Asp Thr  
1 5 10 15

Glu Tyr Arg Arg  
20

<210> 126

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 126

Arg Arg Val Ile Leu Arg Ser Tyr Asp Gly Gly His Ser Thr Pro His  
1 5 10 15

Pro Asp

<210> 127  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 127

Thr Gly Lys Thr Phe Val Lys Arg His Leu Thr Glu Phe Glu Lys Lys  
 1 5 10 15

Tyr Arg

<210> 128  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 128

Asn His Phe Asp Tyr Asp Thr Ile Glu Leu Asp Thr Ala Gly Glu Tyr  
 1 5 10 15

Ser Arg Arg Arg  
 20

<210> 129  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

[0027]

<220>  
 <223> 肽

<400> 129

Asp Pro Glu Pro Pro Arg Tyr Leu Pro Pro Pro Pro Glu Arg Arg  
 1 5 10 15

<210> 130  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 130

Arg Arg Thr Phe Ile Arg His Arg Ile Asp Ser Thr Glu Val Ile Tyr  
 1 5 10 15

Gln Asp Glu Asp  
 20

<210> 131  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 131

Glu Ser Lys Thr Gly His Lys Ser Glu Glu Gln Arg Leu Arg Arg Tyr  
 1 5 10 15

Arg

<210> 132  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 132

Tyr Asp Asp Glu His Asn His His Pro His Ser Thr His Arg Arg  
 1 5 10 15

Arg

<210> 133  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 133

Arg Arg Arg Arg Glu Val His Thr Ile His Gln His Gly Ile Val His  
 1 5 10 15

Ser Asp

[0028] <210> 134  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 134

Asp Glu Pro Leu Pro Pro Pro Glu Arg Arg Arg  
 1 5 10

<210> 135  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 135

Ser Pro His Pro Pro Tyr  
 1 5

<210> 136  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 136

Ser Pro His Pro Pro Tyr Ser Pro His Pro Pro Tyr Ser Pro His Pro  
 1 5 10 15

Pro Tyr Pro

<210> 137  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 137

Arg Arg Pro His Asn Leu His His Asp  
 1 5

<210> 138  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 138

Leu Arg Asp Pro His Pro Pro Glu Arg Arg Ile Arg  
 1 5 10

<210> 139  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 139

[0029] Arg Arg Pro Ala Asp Gln Ile Ser Tyr Leu His Pro Pro Glu Arg  
 1 5 10 15

<210> 140  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 140

Asp Leu Gln Tyr Asp Phe Pro Arg Ile Arg Arg  
 1 5 10

<210> 141  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 141

Tyr Asp Glu Leu Tyr Gln Lys Glu Asp Pro His Arg Arg Arg  
 1 5 10

<210> 142  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 142

Phe Lys Pro Glu Arg Phe Pro Gln Asn Asp Arg Arg Arg  
1 5 10

<210> 143  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 143

Arg Pro Ala Asp Arg Ile Arg Arg  
1 5

<210> 144  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 144

His Asp Phe Asp Pro Arg Tyr Arg Asp Arg Arg  
1 5 10

<210> 145  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

[0030] <400> 145

Arg Ile Arg Arg Asp Pro Asp Ser Pro Leu Pro His Pro Glu  
1 5 10

<210> 146  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> MYRISTATE  
<222> (1)..(1)  
<223> X=肉豆蔻酸

<400> 146

Xaa Arg Arg Ile Arg Ile Leu Met Phe Leu Ile Gly Cys Gly Arg Val  
1 5 10 15

<210> 147  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 147

His Pro His Val Ile Leu Pro Arg Ile Arg Ile Arg Ile Arg  
1 5 10

<210> 148  
<211> 12  
<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 148

Glu Ile His Thr Ile His Leu Leu Pro Glu Arg Arg  
1 5 10

<210> 149  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 149

Glu Pro Ser His Pro Arg Ser Arg Tyr Pro Arg Thr Phe  
1 5 10

<210> 150  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 150

Arg Asn Ile Ile Ile Arg Asp Phe Ile His Phe Ser His Ile Asp Arg  
1 5 10 15

[0031] <210> 151  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> MYRISTATE  
<222> (10)...(10)  
<223> X=肉豆蔻酸

<400> 151

Arg Arg Ile Arg Asp Pro Gln Ile Lys Xaa Leu Glu Ile His Phe Ser  
1 5 10 15

His Ile Asp

<210> 152  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> MYRISTATE  
<222> (1)...(1)  
<223> X=肉豆蔻酸

<400> 152

Xaa Asp Leu His Thr Ile His Ile Pro Arg Asp Arg Arg  
1 5 10

<210> 153

<211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 153

Ser His Asp Phe Pro His Arg Glu Pro Arg Pro Glu Arg Arg  
 1 5 10

<210> 154  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 154

Ser Tyr Arg His Tyr Ser Asp His Trp Glu Asp Arg Arg Arg  
 1 5 10

<210> 155  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 155

Val Trp Val His Asp Ser Cys His Ala Asn Leu Gln Asn Tyr Arg Asn  
 1 5 10 15

[0032] Tyr Leu Leu Pro  
 20

<210> 156  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 156

Glu His Asp Phe Glu Val Arg Gly Asp Val Val Asn Gly Arg Asn His  
 1 5 10 15

Gln Gly Pro Lys  
 20

<210> 157  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 157

Leu Glu Val Ile Tyr Met Ile  
 1 5

<210> 158  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 158

Trp Thr Leu Ser Asn Tyr Leu  
1 5

<210> 159

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 159

Asp Ser Leu His Ser Thr Tyr  
1 5

<210> 160

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 160

Trp His His Arg Gln Gln Ile Pro Arg Pro Leu Glu  
1 5 10

<210> 161

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

[0033]

<220>

<223> 肽

<400> 161

Ala Pro Ser Ile Phe Thr Pro His Ala Trp Arg Gln  
1 5 10

<210> 162

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 162

Thr His Phe Ser His His Leu Lys Gly Gly Gly Arg Arg Gln Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Pro

<210> 163

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 163

Leu His Ser Lys Thr Leu Val Leu Gly Gly Gly Arg Arg Arg Arg Gly  
1 5 10 15

Asp Arg

<210> 164  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
 <400> 164  
  
 Trp Thr Leu Ser Asn Tyr Leu Gly Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg  
 1 5 10 15  
  
 Arg Arg Arg  
  
 <210> 165  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
 <400> 165  
  
 Val Arg Cys Ile Phe Arg Gly Ile Trp Val Arg Leu  
 1 5 10  
  
 <210> 166  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
[0034] <400> 166  
  
 His Ser Ser Gly His Asn Phe Val Leu Val Arg Gln  
 1 5 10  
  
 <210> 167  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
 <400> 167  
  
 Leu Phe Ile Leu Val Phe Arg  
 1 5  
  
 <210> 168  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>  
 <223> 肽  
  
 <400> 168  
  
 Thr Thr Ser His His Pro Lys  
 1 5  
  
 <210> 169  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
  
 <220>

<223> 肽

<400> 169

Val Met Val Leu Phe Arg Ile Leu Arg Gly Ser Met  
1 5 10

<210> 170

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 170

Ser Ile Leu Thr  
1

<210> 171

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 171

Arg Arg Arg Glu Ser Glu Gln Arg Ser Ile Ser Leu His His His Ser  
1 5 10 15

Thr

[0035]

<210> 172

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)

<223> X=肉豆蔻酸

<400> 172

Xaa His Phe Asn His Tyr Thr Phe Glu Ser Thr Cys Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Cys

<210> 173

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 173

His Ser Thr Pro His Pro Pro Gln Pro Pro Glu Arg Arg Arg  
1 5 10

<210> 174

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 174

Arg Arg Lys Ser Glu Pro His Ser Leu Ser Gly Gly Tyr Gln Thr Gly  
1 5 10 15

Ala Asp

<210> 175

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 175

His Arg Thr Gly His Tyr Thr Arg Cys Arg Gln Arg Cys Arg Ser Arg  
1 5 10 15

Ser His Asn Arg His  
20

<210> 176

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 176

Arg Arg Cys Arg Ser Ile Leu Pro Leu Leu Leu Ser Arg  
[0036] 1 5 10

<210> 177

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 177

Arg Thr Leu His Gly Arg Arg Val Ile Leu His Glu Gly Gly His Ser  
1 5 10 15

Ile Ser Asp Leu Lys  
20

<210> 178

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 178

His His Arg Leu Ser Tyr Phe Ile Val Arg Arg His Ser Thr His Ala  
1 5 10 15

Ser Arg

<210> 179

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 179

Arg Arg Ile Arg Ile Asp Pro Gln His Asp  
1 5 10

<210> 180

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 180

Ile Leu Gln Pro Asp Phe Leu Ile Arg Pro Glu  
1 5 10

<210> 181

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 181

His Asp Pro Arg Ile Ile Arg Ile Arg  
1 5

<210> 182

<211> 7

<212> PRT

[0037] <213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 182

Ser Pro Tyr Pro Ile Arg Thr  
1 5

<210> 183

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 183

Ile Leu Val Ile Ile Gln Arg Ile Met  
1 5

<210> 184

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 184

Ile Arg Phe Ile Leu Ile Arg  
1 5

<210> 185

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 185

Ser Ser Val His His Arg Gly  
1 5

<210> 186

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 186

Leu Arg Arg Gln Leu Gln Leu  
1 5

<210> 187

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 187

His Thr Thr Ala His Thr His  
1 5

<210> 188

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 188

His Pro His Asn His Thr Val His Asn Val Val Tyr  
1 5 10

<210> 189

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 189

Asp His Ser Lys Phe Val Pro Leu Phe Val Arg Gln  
1 5 10

<210> 190

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 190

Ser Ile Arg Thr Leu Gly Arg Phe Leu Ile Ile Arg Val  
1 5 10

<210> 191

<211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 <223> 肽  
 <400> 191

Gly Leu Cys Arg Ile Ile Leu  
1 5

<210> 192  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 192

Ser Pro Pro Ile Arg His His  
1 5

<210> 193  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 193

His Pro Thr His Pro Ile Arg Leu Arg Asp Asn Leu Thr Arg  
1 5 10

[0039] <210> 194  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MYRISTATE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 194

Xaa Arg Glu Glu Glu Thr Ile Leu Ile Ile Arg Arg Arg  
1 5 10

<210> 195  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 195

His Thr Ile His Ser Ile Ser Asp Phe Pro Glu Pro Pro Asp Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 196  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 196

Asp Glu Asp Ala Ala His Ser Thr Gly His Pro His Asn Ser Gln His  
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg  
20

<210> 197  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 197

Thr Glu Gln His His Tyr Ile Pro His Arg Arg Arg  
1 5 10

<210> 198  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 198

Arg Leu Arg Arg Val Ile Leu Arg Ser Tyr His Glu  
1 5 10

[0040] <210> 199  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 199

Glu Glu Pro Asp Arg Gln Pro Ser Gly Lys Arg Gly Gly Arg Lys Arg  
1 5 10 15

Arg Ser Arg

<210> 200  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 200

Arg Asp Phe His Thr Ile His Pro Ser Ile Ser Arg Arg  
1 5 10

<210> 201  
<211> 11  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 201

Arg Arg Val Asp Ile His Asp Gly Gln Arg Arg  
1 5 10

<210> 202  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 202

Asp Gln Pro Tyr Pro His Arg Arg Ile Arg  
1 5 10

<210> 203  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> MYRISTATE  
<222> (1), (1)  
<223> X=肉豆蔻酸

<400> 203

Xaa Arg Asp Phe Ile Leu Phe Ile Arg Arg Leu Gly Arg Arg  
1 5 10

<210> 204  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 204

Leu Asp Leu Tyr His Pro Arg Glu Arg Arg  
1 5 10

<210> 205  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 205

Arg Arg Ile Arg Asp Pro Leu Gly Asn Glu His Glu  
1 5 10

<210> 206  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 206

Ile Val Glu Phe Arg Ile Arg Arg  
1 5

<210> 207  
<211> 10

<212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 207

Arg Arg Pro Arg Ile Pro Asp Tyr Ile Leu  
 1 5 10

<210> 208  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 208

Arg Ser Thr Pro His Ile His Glu Phe Ile Arg Arg  
 1 5 10

<210> 209  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 209

Ser His Asp Phe Tyr Pro His Trp Met Arg Glu Arg Ile Arg  
 1 5 10

[0042] <210> 210  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 210

His Phe Ser His His Leu Lys  
 1 5

<210> 211  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 211

Thr Ser Pro Leu Gln Ser Leu Lys  
 1 5

<210> 212  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 212

Ala Ile Leu Thr Leu Ile Leu Arg Arg Val Ile Trp Pro  
 1 5 10

<210> 213  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 213

Leu Arg Phe Ile Asp Tyr Pro  
 1 5

<210> 214  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 214

Gly Pro Ile Lys His His Leu Gln His His  
 1 5 10

<210> 215  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 215

Leu Thr Leu Ser  
 1

[0043]

<210> 216  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 216

Arg Tyr Glu Glu Asn Asn Gly Val Asn Pro Pro Val Gln Val Phe Glu  
 1 5 10 15

Ser Arg Thr Arg  
 20

<210> 217  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 217

Arg Glu Gly Phe Tyr Gly Pro Trp His Glu Gln Arg Arg Arg  
 1 5 10

<210> 218  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 218

Arg Arg Asp Ile Ile Arg His Asn Ala His Ser  
1 5 10

<210> 219

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 219

His Asp Phe His Asp Tyr Leu Glu Arg Arg  
1 5 10

<210> 220

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 220

Ile Arg Glu Phe Asp Pro Arg Arg Ile Arg  
1 5 10

<210> 221

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

[0044] <223> 肽

<400> 221

Arg Leu Arg Cys Leu Leu Leu Leu Ile Gly Arg Val Gly Arg Arg  
1 5 10 15

<210> 222

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 222

Leu Gly Ile Asp Glu Asp Glu Glu Thr Glu Thr Ala Pro Glu  
1 5 10

<210> 223

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 223

Ser Leu Leu Ile Gly Phe Gly Ile Ile Arg Ser Arg  
1 5 10

<210> 224

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 224

Val His Glu Val Thr His His Trp Leu  
1 5

<210> 225

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 225

Ala Thr Pro Phe His Gln Thr  
1 5

<210> 226

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 226

Ser Ile Leu Pro Leu Phe Leu Ile Arg Arg Ser Gly  
1 5 10

<210> 227

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工的

[0045]

<220>

<223> 肽

<400> 227

Ser Cys Arg Cys Arg Leu Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

<210> 228

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 228

Ser Arg Ile Val Leu Gly Trp  
1 5

<210> 229

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 229

Ser Asn Ile His His Gln Val  
1 5

<210> 230

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 230

Leu Thr Leu Met Arg Leu Arg Ile Ile Gly  
1 5 10

<210> 231

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 231

His Ser Tyr Ser Pro Tyr Tyr Thr Phe Arg Gln His  
1 5 10

<210> 232

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 232

Phe Ile Leu Ile Arg  
1 5

<210> 233

<211> 19

<212> PRT

[0046] <213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 233

Arg Cys Arg Asn Arg Lys Lys Glu Lys Thr Glu Cys Leu Gln Lys Glu  
1 5 10 15

Ser Glu Lys

<210> 234

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 234

Arg Arg Ile Lys Met Ile Arg Thr Ser Glu Ser Phe Ile Gln His Ile  
1 5 10 15

Val Ser

<210> 235

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 235

Arg Arg Val Ser Glu Leu Gln Arg Asn Lys His Gly Arg Lys His Glu  
 1 5 10 15

Leu

<210> 236  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 236

Arg Arg Arg Leu Asp Asp Glu Asp Val Gln Thr Pro Thr Pro Ser Glu  
 1 5 10 15

Tyr Gln Asn

<210> 237  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 237

Arg Arg Arg Gln Pro Leu Pro Ser Ala Pro Glu Asn Glu Glu  
 1 5 10

[0047] <210> 238  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 238

Ser Pro Leu Gln Thr Pro Ala Ala Pro Gly Ala Ala Ala Gly Pro Ala  
 1 5 10 15

Leu Ser Pro Val  
 20

<210> 239  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 239

Ser His Gln Val His Thr His His Asn Asn  
 1 5 10

<210> 240  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 240

Lys Leu Gln Val Pro Ile Lys

1 5  
 <210> 241  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 <223> 肽  
 <400> 241  
 Ile Arg Gly Arg Ile Ile Arg Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg  
 1 5 10 15  
 Arg Gly Asp Arg  
 20  
 <210> 242  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 <223> 肽  
 <400> 242  
 Gln Ile Pro His Arg Ser Ser Thr Ala Leu Gln Leu  
 1 5 10  
 <210> 243  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 [0048] <223> 肽  
 <400> 243  
 Ser Tyr Gln Thr Met Gln Pro  
 1 5  
 <210> 244  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 <223> 肽  
 <400> 244  
 Thr Asp Ser His Ser His His Arg  
 1 5 10 15  
 Arg Arg  
 <210> 245  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 <223> 肽  
 <400> 245  
 Ile Pro Met Asn Phe Thr Ser His Ser Leu Arg Gln Arg Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15  
 Arg Arg Arg Arg Arg  
 20

<210> 246  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 246

Tyr	Trp	Ser	Ala	Pro	Gln	Pro	Ala	Thr	Arg						
1				5				10							15

Arg Arg Arg Arg  
 20

<210> 247  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 247

Ser	Thr	Thr	His	Pro	His	Pro	Gly	Thr	Ser	Ala	Pro	Glu	Pro	Ala	Thr
1					5				10			15			

Arg Arg Arg

<210> 248  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

**[0049]** <220>  
 <223> 肽

<400> 248

Asp	Asp	Ser	Asp	Asn	Arg	Ile	Ile	Arg	Tyr	Arg	Arg
1				5				10			

<210> 249  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 249

Thr	Ser	Pro	His	Pro	Ser	Leu	Pro	Arg	His	Ile	Tyr	Pro	Arg	Arg
1					5				10			15		

<210> 250  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 250

Arg	Arg	Ile	Thr	Glu	Ile	Arg	Gly	Arg	Thr	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu	Thr
1				5				10				15			

Tyr Ile Glu Asp  
 20

<210> 251  
 <211> 19

<212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MYRISTATE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 251

Xaa Asp Glu Arg Thr Gly Lys Thr Arg Arg Tyr Ile Asp Thr Arg Asp  
 1 5 10 15

Ile Arg Arg

<210> 252  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MYRISTATE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 252

Xaa Met Thr Tyr Ser Asp Met Pro Arg Arg Ile Ile Thr Asp Glu Asp  
 1 5 10 15

[0050] Arg Arg Arg

<210> 253  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 253

Arg Arg Tyr Asp Thr Val Ile Asp Asp Ile Glu Tyr Arg Arg  
 1 5 10

<210> 254  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 254

Arg Asp Thr Ile Glu Arg Pro Glu Ile Arg Arg  
 1 5 10

<210> 255  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 255

Xaa Arg Tyr Arg Arg Leu Ile Leu Glu Ile Trp Arg Arg  
 1 5 10

<210> 256

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)

<223> X=肉豆蔻酸

<400> 256

Xaa Arg His Asp Thr His Asn Ala His Ile Arg Arg  
 1 5 10

<210> 257

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 257

Thr His Asp Phe Asp Arg Leu Leu Arg Ile Arg Arg Arg  
 1 5 10

[0051]

<210> 258

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 258

Arg His Asn His Ile Arg Pro Asp Asn Gln  
 1 5 10

<210> 259

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 259

Arg Tyr Lys Glu Pro Arg Ile Thr Pro Arg Glu  
 1 5 10

<210> 260

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 260

Leu Arg Ile Glu Pro Ile Arg Ile Arg

1 5

<210> 261  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> MYRISTATE  
<222> (1)..(1)  
<223> X=肉豆蔻酸

<400> 261

Xaa Arg Leu Ile Arg Ile Arg Ile Leu Met  
1 5 10

<210> 262  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 262

Arg Pro Glu Phe His Ser Phe His Pro Ile Tyr Glu Arg Arg  
1 5 10

<210> 263  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

[0052]

<220>  
<223> 肽

<400> 263

Ser Thr Thr His Ile His Ala  
1 5

<210> 264  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 264

Phe Pro His Leu Val Ser Ser Leu Thr Thr  
1 5 10

<210> 265  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 265

Gly Leu His Leu Phe Thr Thr Asp Arg Gln Gly Trp  
1 5 10

<210> 266  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 266

Asn His Pro Trp Gln Phe Pro Asn Arg Trp Thr Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg

<210> 267  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 267

His Ser Ser His His Pro Val His Ser Trp Asn Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg

<210> 268  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> MYRISTATE  
<222> (1)..(1)  
[0053] <223> X=肉豆蔻酸

<400> 268

Xaa Asp Ile His Thr Ile His Leu Pro Asp Thr His Arg Arg  
1 5 10

<210> 269  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 269

Val Ala Glu Phe Ala Gln Ser Ile Gln Ser Arg Ile Val Glu Trp Lys  
1 5 10 15

Glu Arg Leu Asp  
20

<210> 270  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 270

Thr Arg Ile Leu Cys Ile Val Met Met  
1 5

<210> 271

<211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 271

Phe Leu Leu Pro Glu Pro Asp Glu Asn Thr Arg Trp  
 1 5 10

<210> 272  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 272

Leu Met Ser Asn Ala Gln Tyr  
 1 5

<210> 273  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 273

Ser Ile Leu Thr Leu Ser Cys Arg Cys Arg Leu Arg Leu Trp Arg  
 1 5 10 15

[0054] <210> 274  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 274

His Gln Ile His Arg Asn His Thr Tyr  
 1 5

<210> 275  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 275

Leu Ile Arg Arg Cys Ser Leu Gln Arg  
 1 5

<210> 276  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 276

Gly Ala Met His Leu Pro Trp His Met Gly Thr Arg Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

Arg

<210> 277  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 277

Asp Glu Asp Ala Lys Phe Arg Ile Arg Ile Leu Met Arg Arg  
 1 5 10

<210> 278  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 278

Asn His Ile Thr Asn Gly Gly Glu Glu Asp Ser Asp Cys Ser Ser Arg  
 1 5 10 15

Arg Arg Arg Leu  
 20

<210> 279  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

[0055] <220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MYRISTATE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 279

Xaa His Ser Ser His His Pro Thr Val Gln His Arg Arg  
 1 5 10

<210> 280  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 280

Arg Asp Phe Glu Arg Thr Ile Val Asp Ile  
 1 5 10

<210> 281  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MYRISTATE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 281

Xaa Arg Arg Arg Glu Ile Leu His Pro Glu Phe Arg Ile Leu Tyr Glu  
1 5 10 15

<210> 282

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 282

His His Phe Ser His His Trp Lys Thr  
1 5

<210> 283

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 283

Phe Leu Ile Arg Arg Ser Gly  
1 5

<210> 284

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

[0056]

<220>

<223> 肽

<400> 284

His Asn His His Ser Gln His Thr Pro Gln His  
1 5 10

<210> 285

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 285

His Leu His Lys His His Tyr Lys Asp Ser Arg Met  
1 5 10

<210> 286

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 286

His Arg Thr Gln Ser Thr Leu Ile Leu Phe Ile Arg Arg Gly Arg Glu  
1 5 10 15

Thr

<210> 287

<211> 9

<212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 287

Leu His Phe Ser His Ile Asp Arg Arg  
 1 5

<210> 288  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 288

Tyr Glu Leu Pro His His Ala Tyr Pro Ala  
 1 5 10

<210> 289  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 289

Ser Leu Leu Ile Gly Phe Gly Ile Ile Arg Ser Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

[0057] Arg Arg Arg

<210> 290  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 290

His Thr Asp Ser His Pro His His His Pro His Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

Arg

<210> 291  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 291

Ala Thr Gln His His Tyr Ile Lys Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

Arg Arg Arg

<210> 292  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 292

Phe Arg Ser Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg

<210> 293  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 293

Tyr Pro Thr Gln Gly His Leu Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg

<210> 294  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 294

[0058] His Ala Asn Leu His His Thr Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 295  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 295

Tyr Arg Arg Leu Leu Ile Gly Met Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg  
20

<210> 296  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 296

Ser His Tyr His Thr Pro Gln Asn Pro Pro Ser Thr Arg Arg Arg  
1 5 10 15

<210> 297  
<211> 17  
<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 297

Arg Ser Tyr Ser Lys Leu Leu Cys Leu Leu Glu Arg Leu Arg Ile Ser  
1 5 10 15

Pro

<210> 298

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 298

Phe Trp Thr Gln Ser Ile Lys Glu Arg Lys Met Leu Asn Glu His Asp  
1 5 10 15

Phe Glu Val Arg  
20

<210> 299

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

[0059] <400> 299

Thr His Phe Ser His His Leu Lys His  
1 5

<210> 300

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 300

Ser Cys Arg Cys Arg Leu Arg  
1 5

<210> 301

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 301

Met His Pro Pro Asp Trp Tyr His His Thr Pro Lys Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 302

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 302

His Thr Ile His Val His Tyr Pro Gly Asn Arg Gln Pro Asn Pro Pro  
1 5 10 15

Leu Ile Leu Gln Arg  
20

<210> 303

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 303

Thr Pro Ser Tyr Gly His Thr Pro Ser His His Arg Arg Arg  
1 5 10

<210> 304

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)

<223> X=肉豆蔻酸

[0060] <400> 304

Xaa Ile Arg Gly Arg Ile Arg Ile Ile Arg Arg Arg Ile Arg  
1 5 10

<210> 305

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 305

His His Pro Trp Thr His His Gln Arg Trp Ser  
1 5 10

<210> 306

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 306

Ile Pro Met Asn Phe Thr Ser His Ser Leu Arg Gln  
1 5 10

<210> 307

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 307

Ser Asn His His His Arg His His Thr Asn Thr His  
1 5 10

<210> 308

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 308

Glu Val Thr Phe Arg His Ser Val Val Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg  
20

<210> 309

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 309

Phe Pro Gly His Thr Ile His Arg  
1 5 10 15

Arg Arg

[0061]

<210> 310

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 310

Ser Ile Leu Thr Leu Ser Arg Ile Val Leu Gly Trp Trp  
1 5 10

<210> 311

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 311

Thr Leu Tyr Leu Pro His Trp His Arg His  
1 5 10

<210> 312

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 312

Ser Ile Leu Thr Leu Arg Leu Arg Arg Leu Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 313  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 313

Thr Leu Tyr Leu Pro His Trp His Arg His Arg Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg  
 20

<210> 314  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 314

Thr Asp Ser His Ser His His  
 1 5

<210> 315  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

[0062] <220>  
 <223> 肽

<400> 315

Glu Trp Lys Glu Arg Leu Asp Lys Glu Phe Ser Leu Ser Val Tyr Gln  
 1 5 10 15

Lys Met Lys Phe  
 20

<210> 316  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 316

Thr Ile His Pro Ser Ile Ser  
 1 5

<210> 317  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 317

Ser Ile Leu Thr Leu Arg Leu Arg Arg Leu Arg Arg  
 1 5 10

<210> 318  
 <211> 8

<212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 318

Val Pro His Ile His Glu Phe Thr  
 1 5

<210> 319  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 319

Thr Ile Ile His Arg Glu Asp Glu Asp Glu Ile Glu Trp  
 1 5 10

<210> 320  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 320

Lys Asp Leu Pro Phe Tyr Ser His Leu Ser Arg Gln  
 1 5 10

[0063] <210> 321  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 321

Thr His Phe Ser His His Leu Lys His Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

Arg Arg Arg

<210> 322  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 322

Ala Thr Gln His His Tyr Ile Lys  
 1 5

<210> 323  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 323

Ile Ile Arg Gly Asn Phe Leu Ile Gly Gly Arg Leu  
1 5 10

<210> 324  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 324

Leu Pro Asn Pro Pro Glu Arg His His Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg  
20

<210> 325  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 325

Ser Phe Ile Leu Phe Ile Arg Arg Gly Arg Leu Gly Arg Gly Asp Arg  
1 5 10 15

<210> 326  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

[0064] <220>  
<223> 肽

<400> 326

Phe Pro Gly His Thr Ile His  
1 5

<210> 327  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 327

Cys Ile Leu Arg Leu Trp Trp  
1 5

<210> 328  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 328

Arg Arg Arg Ser His Ser Gln Glu Asn Val Asp Gln Asp Thr Asp Glu  
1 5 10 15

<210> 329  
<211> 18  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 329

Met Ser Thr Glu Ser Asn Met Pro Arg Leu Ile Gln Asn Asp Asp Arg  
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 330

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 330

Leu Leu Arg Leu Gly Leu Ile  
1 5

<210> 331

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 331

Ile Arg Ile Leu Met Phe Leu Ile Gly Cys Gly Arg  
1 5 10

[0065] <210> 332  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 332

Leu His Ser Lys Thr Leu Val Leu  
1 5

<210> 333

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 333

Leu Arg Cys Leu Leu Leu Ile Gly Arg Val Gly  
1 5 10

<210> 334

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 334

Phe Leu Ile Gly Pro Asp Arg Leu Ile Arg Ser Arg  
1 5 10

<210> 335  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 335

Leu Pro Asn Pro Pro Glu Arg His His  
 1 5

<210> 336  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 336

His Thr Asp Ser His Pro His His His His Pro His  
 1 5 10

<210> 337  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> 异硫氰酸荧光素(FITC)  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X=异硫氰酸荧光素(FITC)

[0066]

<400> 337

Xaa Ser Phe Ile Leu Phe Ile Arg Arg Gly Arg Leu Gly Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
 20

<210> 338  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 338

His Ser Ser His His Pro Val His Ser Trp Asn  
 1 5 10

<210> 339  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MYRISTATE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 339

Xaa Arg Thr Leu Ile Gly Ile Ile Arg Ser His His Leu Thr Leu Ile

1	5	10	15
---	---	----	----

Arg Arg

<210> 340  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 340

Ile Arg Gly Arg Ile Ile Arg  
 1                   5

<210> 341  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 341

Ile Ile Arg Gly Asn Phe Leu Ile Gly Gly Arg Leu Arg Arg Arg Arg  
 1                   5               10                   15

Arg Arg Arg Arg Arg  
 20

<210> 342  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 342

Ile Arg Ile Leu Met  
 1                   5

<210> 343  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 343

Gly Ala Met His Leu Pro Trp His Met Gly Thr Leu  
 1                   5               10

<210> 344  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 344

Lys Arg Gly Gly Arg Lys Arg Arg Gly Gly His Arg Leu Ser Tyr  
 1                   5               10                   15

Phe Ile Arg Arg  
 20

<210> 345  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 345

Asn His Pro Trp Gln Phe Pro Asn Arg Trp Thr Val  
 1 5 10

<210> 346  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 346

Met His Pro Pro Asp Trp Tyr His His Thr Pro Lys His  
 1 5 10

<210> 347  
 <211> 18  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 347

[0068] Ser Trp Gln Ala Leu Ala Leu Tyr Ala Ala Gly Trp Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15  
 Arg Arg

<210> 348  
 <211> 4  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 348

His Asn Ala His  
 1

<210> 349  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 349

Asp Glu Phe Glu Arg Tyr Arg Arg Phe Ser Thr Ser Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

<210> 350  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 350

Glu Val Thr Phe Arg His Ser Val Val  
1 5

<210> 351

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 351

Thr Arg Ile Leu Cys Ile Val Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Gly Asp Arg  
20

<210> 352

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 352

Ser Ile Leu Thr Leu Ser Arg Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg

[0069] <210> 353

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 353

Cys Ile Leu Arg Leu Trp Trp Arg  
1 5 10 15

Arg Arg

<210> 354

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 354

Ala Ser Trp Gln Ala Leu Ala Leu Tyr Ala Ala Gly Trp  
1 5 10

<210> 355

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 355

Xaa Pro Arg Val Leu Pro Ser Pro His Thr Ile His Pro Ser Gln Tyr  
 1 5 10 15

Pro

<210> 356  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 356

His Ala Asn Leu His His Thr  
 1 5

<210> 357  
 <211> 22  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 357

Ser Phe Ile Leu Phe Ile Arg Arg Gly Arg Leu Gly Arg Lys Lys Arg  
 1 5 10 15

[0070] Arg Gln Arg Arg Arg Pro  
 20

<210> 358  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 358

Tyr Pro Thr Gln Gly His Leu Arg  
 1 5

<210> 359  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 359

Tyr Arg Arg Leu Leu Ile Gly Met Met Trp Arg Arg Arg Arg Arg Arg  
 1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg Arg  
 20

<210> 360  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 360

Ser Phe Ile Leu Phe Ile Arg Arg Gly Arg Leu Gly  
1 5 10

<210> 361

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 361

Ile Arg Ile Leu Met Phe Leu Ile Gly Cys Gly Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg

<210> 362

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)

<223> X=肉豆蔻酸

<400> 362

Xaa Arg Arg Ile Cys Arg Phe Ile Arg Ile Cys Arg Val Arg  
[0071] 1 5 10

<210> 363

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 363

Ile Arg Gly Arg Ile Ile Arg  
1 5 10 15

<210> 364

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 364

Arg Arg Arg His Asp Ser Cys His Asn Gln Leu Gln Asn Tyr Asp His  
1 5 10 15

Ser Thr Glu

<210> 365

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 365

Trp Asn His His Ser Thr Pro His Pro Arg Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg  
20

<210> 366

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)

<223> X=肉豆蔻酸

<400> 366

Xaa Arg Arg Pro Val Ala Pro Asp Leu Arg His Thr Ile His Ile Pro  
1 5 10 15

Pro Glu Arg

<210> 367

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

[0072] <400> 367

Arg Arg Asp Ile His Thr Ile His Pro Phe Tyr Gln  
1 5 10

<210> 368

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 368

Trp Asn His His His Ser Thr Pro His Pro Ala His  
1 5 10

<210> 369

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 369

Ser Phe Ile Leu Phe Ile Arg Arg Gly Arg Leu Gly Arg Arg Arg Arg  
1 5 10 15

Arg Arg Arg Arg Arg  
20

<210> 370

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> D-氨基酸  
<222> (1)..(20)

<400> 370

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Gly Leu Arg Gly Arg Arg Ile Phe  
1 5 10 15

Leu Ile Phe Ser  
20

<210> 371  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> MYRISTATE  
<222> (1)..(1)  
<223> X=肉豆蔻酸

<400> 371

Xaa Arg Arg His Asn Ala His His Ser Thr Pro His Pro Asp Asp Arg  
1 5 10 15

<210> 372  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> 人工的

[0073]

<220>  
<223> 肽

<400> 372

His Ser Thr Pro His Pro  
1 5

<210> 373  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 373

Leu Arg Cys Leu Leu Leu Ile Gly Arg Val Gly Arg Lys Lys Arg  
1 5 10 15

Arg Gln Arg Arg  
20

<210> 374  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<220>  
<221> MYRISTATE  
<222> (1)..(1)  
<223> X=肉豆蔻酸

<400> 374

Xaa Arg Arg Lys His Asn Lys His Arg Pro Glu Pro Asp Ser Asp Glu  
1 5 10 15

Arg

<210> 375

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)

<223> X=肉豆蔻酸

<400> 375

Xaa Arg Arg Ile Arg Asp Pro Arg Ile Leu Leu Leu His Phe Asp  
1 5 10 15

<210> 376

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 376

Arg Lys Arg Gly Lys Ser Tyr Ala Phe Phe Val Pro Pro Ser Glu Ser  
1 5 10 15

[0074]

Lys Glu Arg Trp  
20

<210> 377

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)

<223> X=肉豆蔻酸

<400> 377

Xaa Arg Arg Lys Ile Leu Phe Ile Arg Leu Met His Asn Lys His  
1 5 10 15

<210> 378

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<220>

<221> MYRISTATE

<222> (1)..(1)

<223> X=肉豆蔻酸

<400> 378

Xaa Arg Arg Leu Ile Val Arg Ile Leu Lys Leu Pro Asn Pro Pro Glu

1	5	10	15
---	---	----	----

Arg

<210> 379  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<220>  
 <221> MYRISTATE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> X=肉豆蔻酸

<400> 379

Xaa Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
 1                   5                   10

<210> 380  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 380

Lys Pro Pro Asp Arg Leu Trp His Tyr Thr Gln Pro  
 1                   5                   10

[0075]           <210> 381  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 381

Ala Thr Leu Pro Phe Val Thr Asp Arg Gln Gly Trp  
 1                   5                   10

<210> 382  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 382

Phe Tyr Ser His Ser Thr Ser Pro Ala Pro Ala Lys  
 1                   5                   10

<210> 383  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 383

Cys Tyr Ser His Ser Tyr Pro Thr Gln Gly His Leu  
 1                   5                   10

<210> 384

<211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 384

Glu Phe His Ser Phe Tyr Thr Ala Arg Gln Thr Gly  
 1 5 10

<210> 385  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 385

Ser Asp Gly Phe Val Pro His Phe Lys Arg Gln His  
 1 5 10

<210> 386  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 386

Leu Pro Asn Pro Pro Glu Arg  
 1 5

[0076] <210> 387  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 387

Leu His Ser Lys Thr Leu Val  
 1 5

<210> 388  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 388

His Val His Thr His Gln  
 1 5

<210> 389  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 389

Ser Ser Ser Leu Gly Thr His  
 1 5

<210> 390  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 390

His Glu Val Thr His His Trp  
 1 5

<210> 391  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 391

Ser Ala Pro Gln Pro Ala Thr  
 1 5

<210> 392  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 392

[0077] Thr Pro Pro Leu Thr Leu Ile  
 1 5

<210> 393  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 393

His Pro Trp Thr His His  
 1 5

<210> 394  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 394

Ser Ala Ala Ser Asp Leu Arg  
 1 5

<210> 395  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> 人工的

<220>  
 <223> 肽

<400> 395

Ser Pro Leu Gln Ser Leu Lys  
1 5

<210> 396  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 396

Arg Pro Thr Gln Val Leu His  
1 5

<210> 397  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 397

Phe Arg Ser Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe  
1 5 10

<210> 398  
<211> 12  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

[0078] <400> 398

Lys Ile Leu Phe Ile Arg Leu Met His Asn Lys His  
1 5 10

<210> 399  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 399

His His His Pro  
1

<210> 400  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 400

His Thr Ile His  
1

<210> 401  
<211> 4  
<212> PRT  
<213> 人工的

<220>  
<223> 肽

<400> 401

His Asn Lys His  
1

<210> 402

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 402

Leu Leu Leu Ile Gly  
1 5

<210> 403

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 403

Ile Leu Phe Ile Arg  
1 5

<210> 404

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

[0079] <223> 肽

<400> 404

Ile Arg Gly Arg Ile Ile  
1 5

<210> 405

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 405

Ser Phe Ile Leu Phe Ile Arg  
1 5

<210> 406

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 406

Tyr Pro Thr Gln Gly His Leu  
1 5

<210> 407

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 407

Trp Asn His His Ser Thr Pro His Pro  
1 5 10

<210> 408

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 408

Ile Arg Ile Leu Met Phe Leu Ile Gly Cys Gly  
1 5 10

<210> 409

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 409

Ser Trp Gln Ala Leu Ala Leu Tyr Ala Ala Gly Trp  
1 5 10

<210> 410

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工的

[0080]

<220>

<223> 肽

<220>

<221> D-氨基酸

<222> (1)..(12)

<400> 410

Gly Leu Arg Gly Arg Arg Ile Phe Leu Ile Phe Ser  
1 5 10

<210> 411

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 肽

<400> 411

Leu Arg Cys Leu Leu Leu Ile Gly Arg Val Gly Arg Lys Lys Arg  
1 5 10 15

Arg Gln

<210> 412

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (1)..(1)  
 <223> N端肉豆蔻酰化

<400> 412

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Gly Glu  
 1 5 10

<210> 413  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 413

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Ser Glu  
 1 5 10

<210> 414  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

[0081] <220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 414

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Ala Asp  
 1 5 10

<210> 415  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 415

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Ala Glu  
 1 5 10

<210> 416  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 416

Arg Arg His Ser Ser Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 417

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 417

Arg Arg His Ser Val Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 418

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 418

Arg Arg His Ser Cys Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 419

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> D谷氨酸

<400> 419

Arg Arg His Ser Glu Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 420

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> D苏氨酸  
  
 <400> 420  
  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp  
 1 5  
  
 <210> 421  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> pCAP 250 肽变体  
  
 <220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> D丝氨酸  
  
 <400> 421  
  
 Arg Arg His Ser Ser Pro His Pro Asp  
 1 5  
  
**[0083]**  
 <210> 422  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> pCAP 250 肽变体  
  
 <220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> D缬氨酸  
  
 <400> 422  
  
 Arg Arg His Ser Val Pro His Pro Asp  
 1 5  
  
 <210> 423  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> pCAP 250 肽变体  
  
 <220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE

<222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 423

Arg Arg Xaa Ser Thr Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 424

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 424

Arg Arg His Ser Thr Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 425

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> 甲基化氨基酸残基

<400> 425

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Asp  
 1 5 10

<210> 426

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 426

Arg Arg His Ser Thr Pro His Ala Asp  
 1 5

<210> 427

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 427

Arg Arg His Ser Lys Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 428  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 428

Arg Arg His Ser Ser Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

[0085] <210> 429  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> D缬氨酸

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 429

Arg Arg His Ser Val Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 430  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 430

Arg Arg His Ser Thr Pro Xaa Ala Asp  
1 5

<210> 431

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> D丝氨酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 431

[0086] Arg Arg His Ser Ser Pro Xaa Pro Asp  
1 5

<210> 432

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (10)..(10)

<223> C-端酰胺化

<400> 432

Arg Arg His Ser Lys Pro His Pro Asp Asp  
1 5 10

<210> 433

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 433

Arg Arg Xaa Ser Thr Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 434  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 434

Arg Arg His Ser Lys Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

[0087] <210> 435  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 435

Arg Arg Xaa Ser Lys Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 436  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature

<222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 436

Arg Arg Xaa Ser Lys Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 437  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 437

Arg Arg His Ser Lys Pro His Ala Asp  
 1 5

<210> 438  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 438

Arg Arg His Ser Lys Pro His Ala Ser Glu  
 1 5 10

<210> 439  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 439

Arg Arg His Ser Lys Pro His Pro Ser Glu  
 1 5 10

<210> 440  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> D丝氨酸

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 440

Arg Arg Xaa Ser Ser Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 441  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

[0089] <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> D 缬氨酸

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 441

Arg Arg Xaa Ser Val Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 442  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 442

Arg Arg His Ser Thr Pro His Ala Ser Glu  
 1 5 10

<210> 443

<211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> D赖氨酸

<400> 443

Arg Arg His Ser Lys Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 444  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

[0090] <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (5)..(5)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 444

Arg Arg His Ser Xaa Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 445  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (5)..(5)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 445

Arg Arg His Ser Xaa Pro His Ala Asp  
 1 5

<210> 446  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 446

Arg Arg His Ser Glu Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 447  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 447

Arg Arg Xaa Ser Glu Pro His Pro Asp  
 1 5

[0091]

<210> 448  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)  
 <223> D 缬氨酸

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..(9)  
 <223> C-端酰胺化

<400> 448

Arg Arg His Ser Val Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 449  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体  
  
 <220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团  
  
 <220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (6)..(6)  
 <223> X是2-氨基异丁酸( Aib)  
  
 <400> 449  
  
 Arg Arg His Ser Thr Xaa His Ala Asp  
 1 5  
  
 <210> 450  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> pCAP 250 肽变体  
  
 <220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团  
  
 <400> 450  
  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Ile Glu Gly Arg  
 1 5 10  
  
 <210> 451  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> pCAP 250 肽变体  
  
 <220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团  
  
 <400> 451  
  
 Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp Ile Glu Gly Arg Gly Trp Gln  
 1 5 10 15  
  
 Arg Pro Ser Ser Trp  
 20  
  
 <210> 452  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列  
  
 <220>  
 <223> pCAP 250 肽变体  
  
 <220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)  
  
 <220>

<221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 452

Arg Arg Xaa Ser Glu Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 453  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (9)..(9)  
 <223> C-端酰胺化

<400> 453

Arg Arg His Ser Glu Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

[0093] <210> 454  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 454

Arg Arg Xaa Ser Glu Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 455  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> MISC\_FEATURE  
 <222> (5)..(5)

<223> L-磷酸丝氨酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 455

Arg Arg His Ser Ser Pro Xaa Pro Asp  
1 5

<210> 456

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> D-磷酸丝氨酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 456

[0094] Arg Arg His Ser Ser Pro Xaa Pro Asp  
1 5

<210> 457

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> L-磷酸丝氨酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (9)..(9)

<223> C-端酰胺化

<400> 457

Arg Arg His Ser Ser Pro Xaa Pro Asp  
1 5

<210> 458

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列  
 <220>  
 <223> pCAP 250 肽变体  
 <220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (7)..(7)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 458

Arg Arg His Ser Lys Pro Xaa Pro Asp  
 1 5

<210> 459  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (3)..(3)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

[0095]

<400> 459

Arg Arg Xaa Ser Lys Pro His Pro Asp  
 1 5

<210> 460  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 460

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Ala His  
 1 5 10

<210> 461  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> 人工序列

<220>  
 <223> pCAP 250 肽变体

<220>  
 <221> 脂质  
 <222> (1)..(1)  
 <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>  
 <221> misc\_feature

<222> (10)..(10)  
 <223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 461

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Ala Xaa  
 1 5 10

<210> 462

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 462

Arg Arg His Ser Thr Pro His Pro Asp His  
 1 5 10

<210> 463

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

[0096] <223> 连接肉豆蔻酸基团

<220>

<221> MISC\_FEATURE

<222> (5)..(5)

<223> D-缬氨酸

<220>

<221> misc\_feature

<222> (7)..(7)

<223> X是L- 二氨基丁酸(L-DAB)

<400> 463

Arg Arg His Ser Val Pro Xaa Pro Asp His  
 1 5 10

<210> 464

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> pCAP 250 肽变体

<220>

<221> 脂质

<222> (1)..(1)

<223> 连接肉豆蔻酸基团

<400> 464

Arg Arg His Ser Thr Pro His Ala Asp His  
 1 5 10

<210> 465

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>  
<223> pCAP 250 肽变体  
  
[0097] <220>  
<221> misc\_feature  
<222> (7)..(7)  
<223> X是二氨基丁酸(DAB)  
  
<400> 465  
  
Arg Arg His Ser Thr Pro Xaa Pro Asp  
1                      5

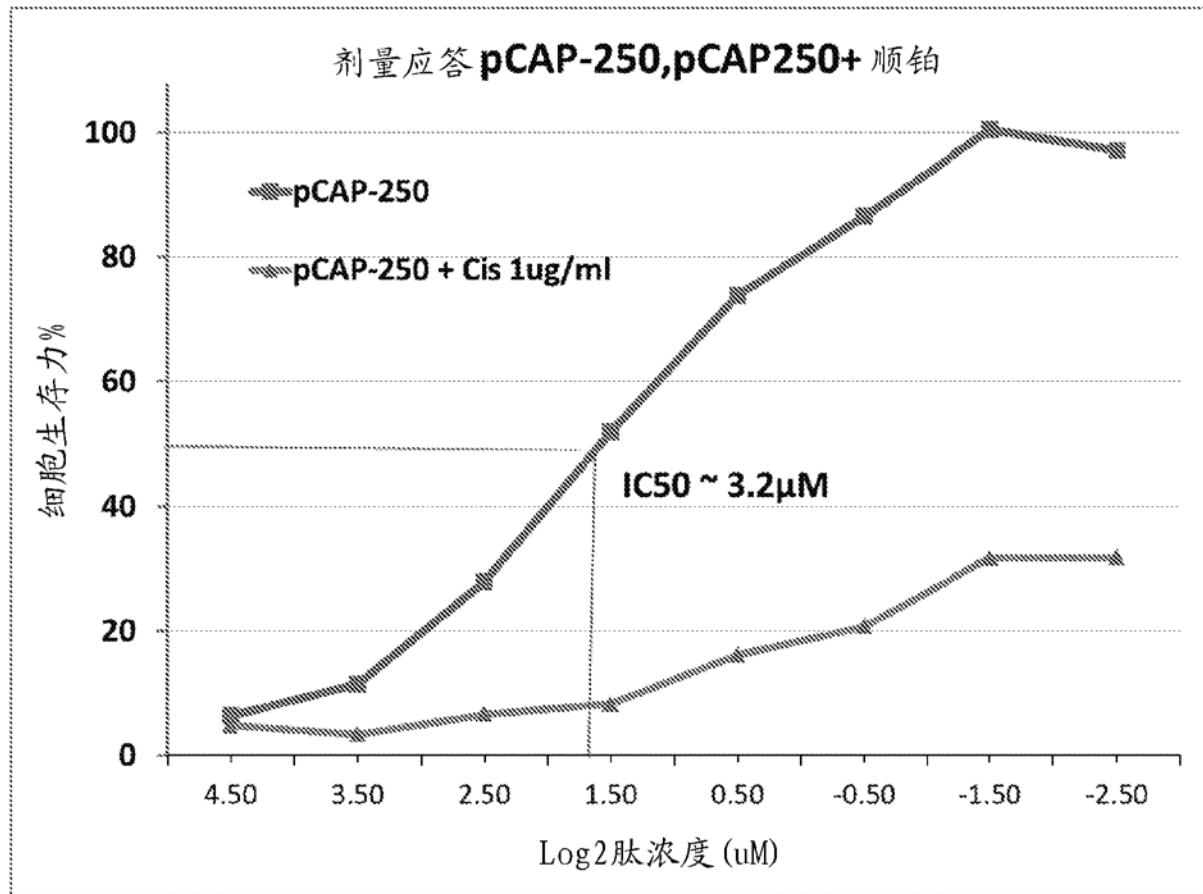


图 1

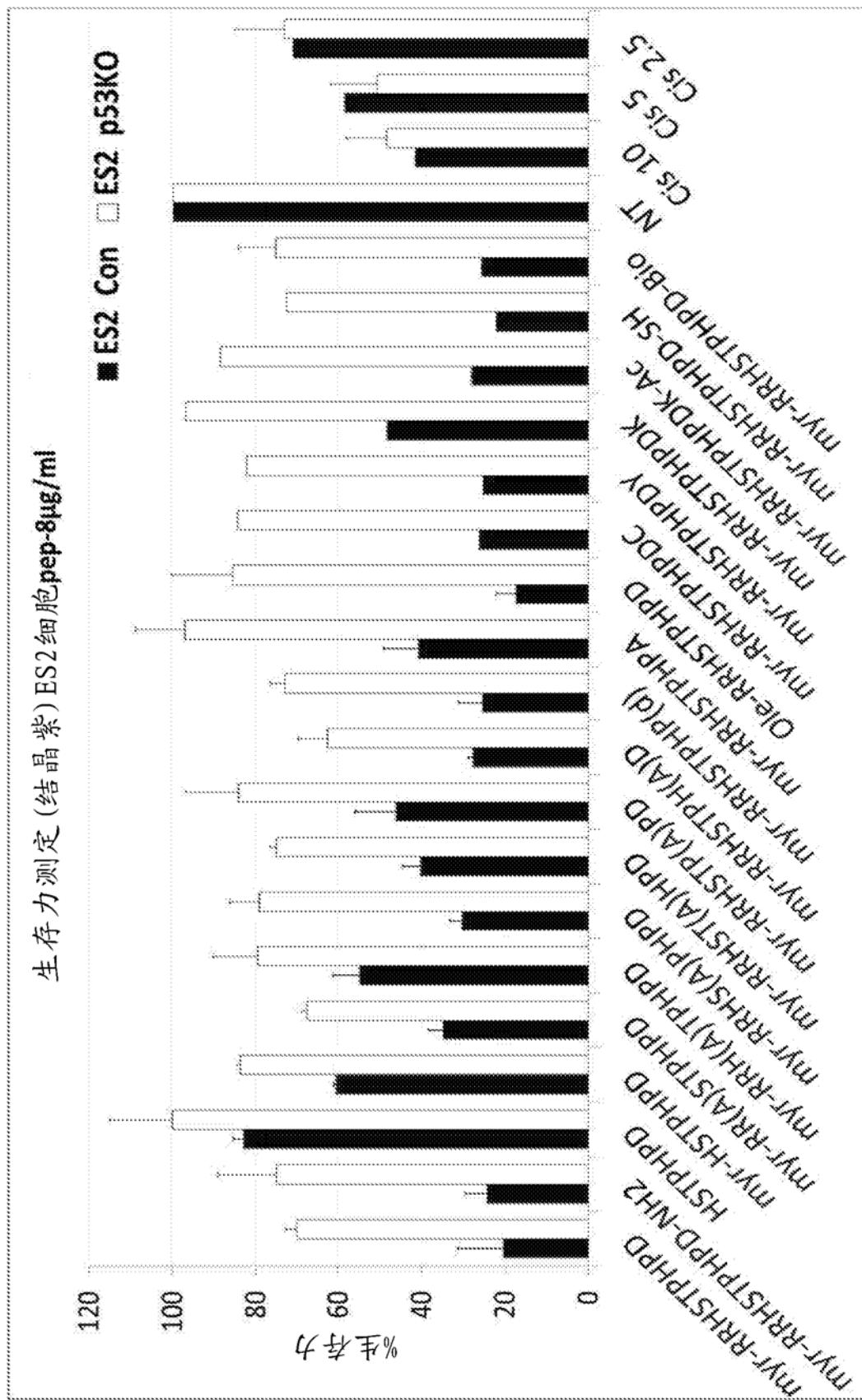


图 2

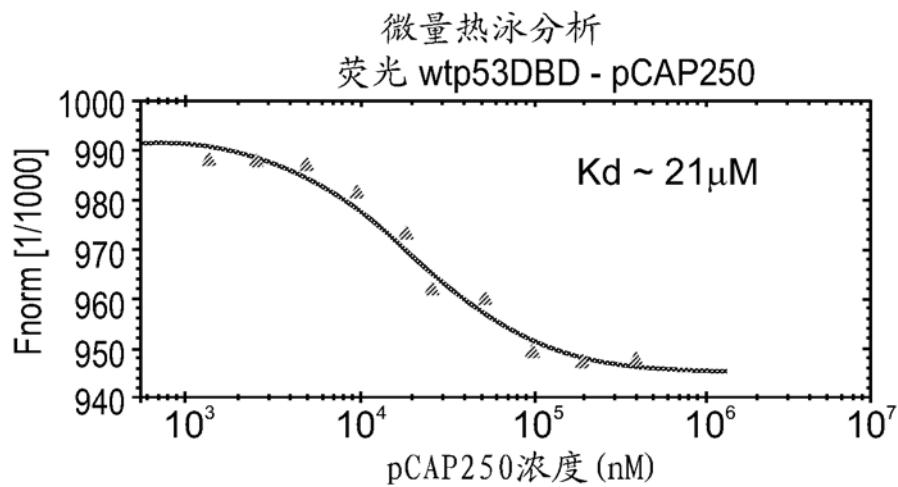


图 3A

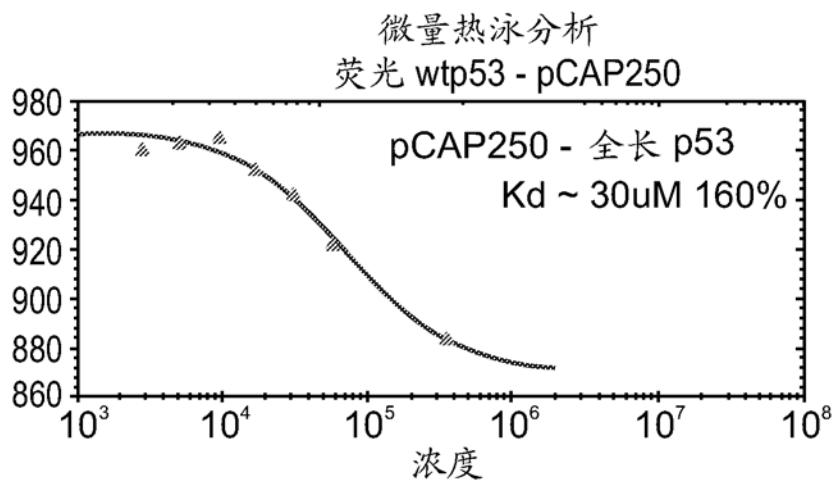


图 3B

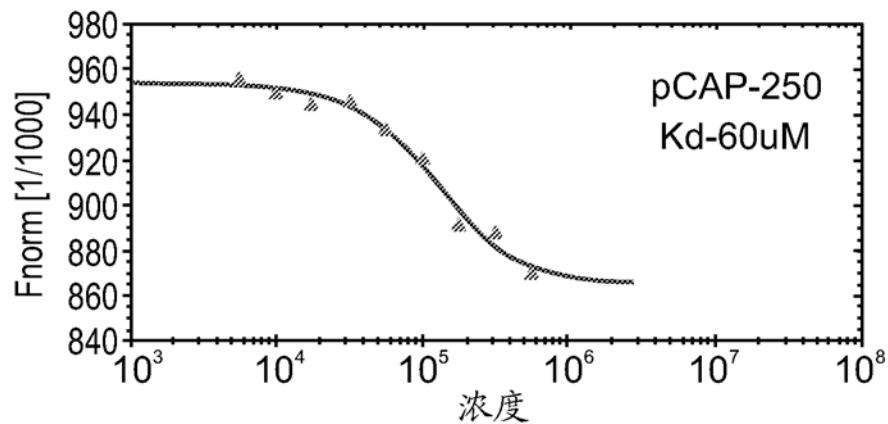


图 3C

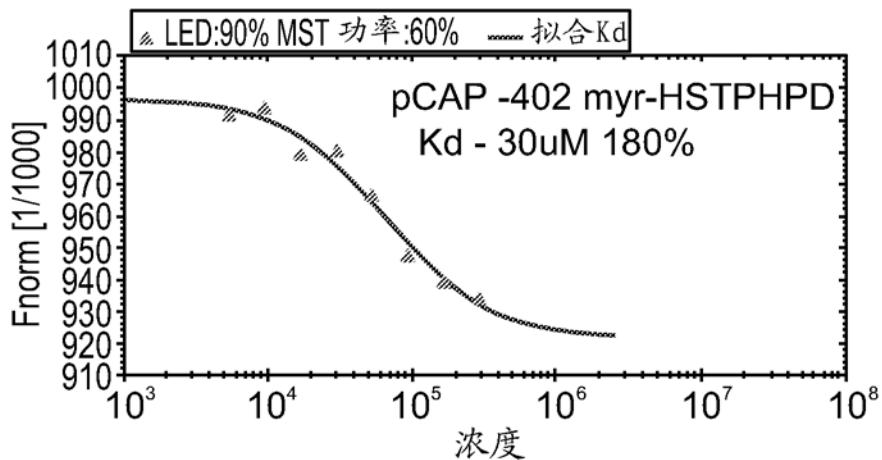


图 3D

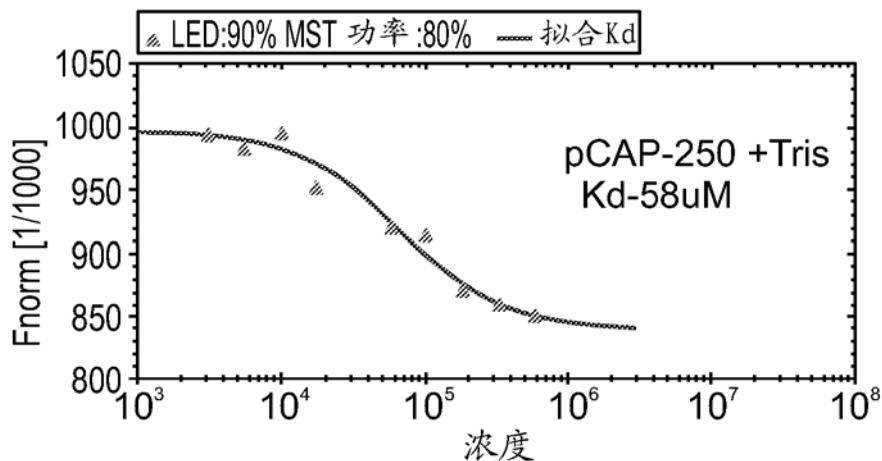


图 3E

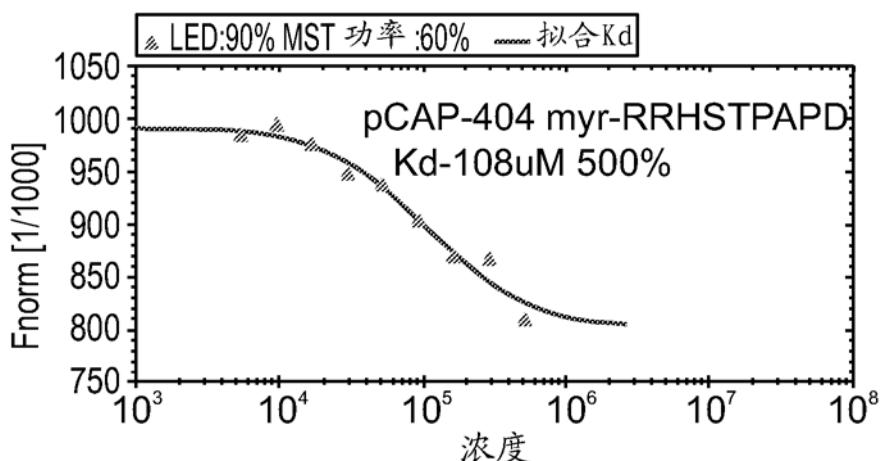


图 3F

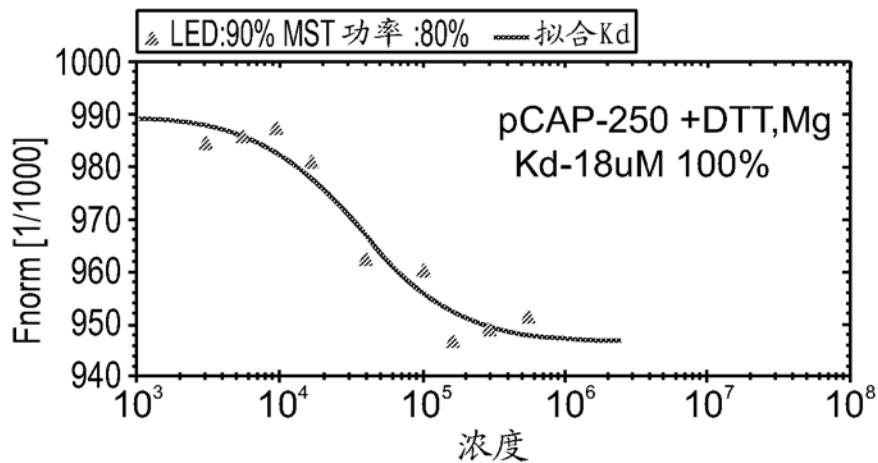


图 3G

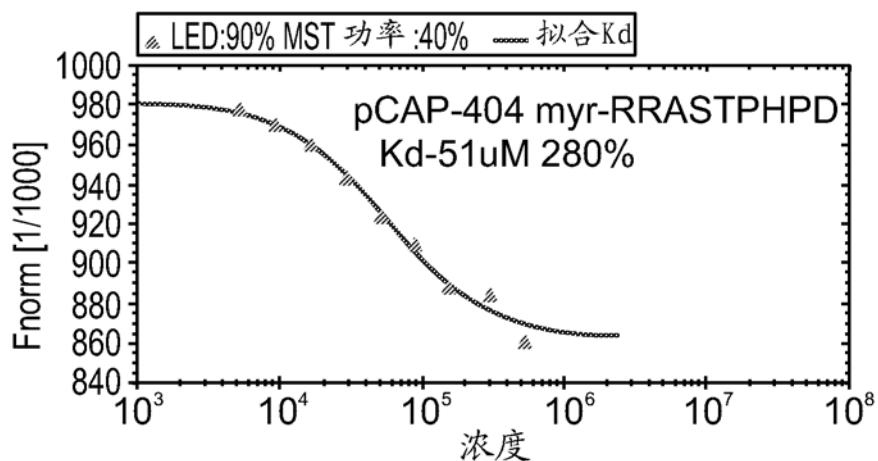


图 3H

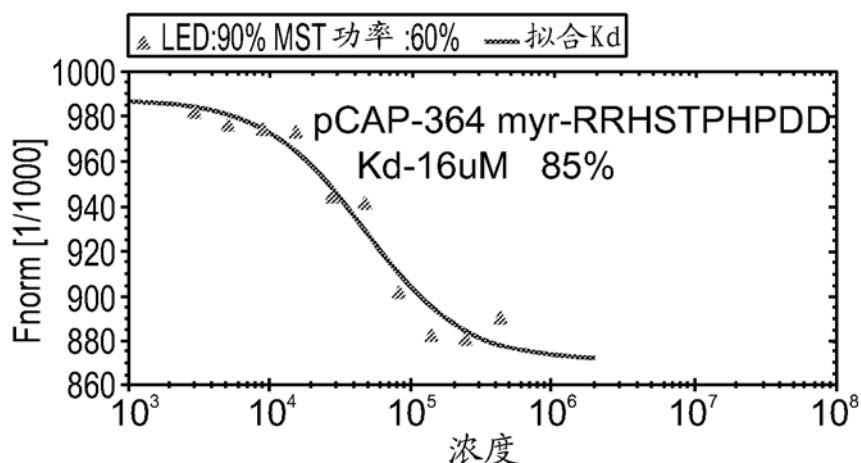


图 3I

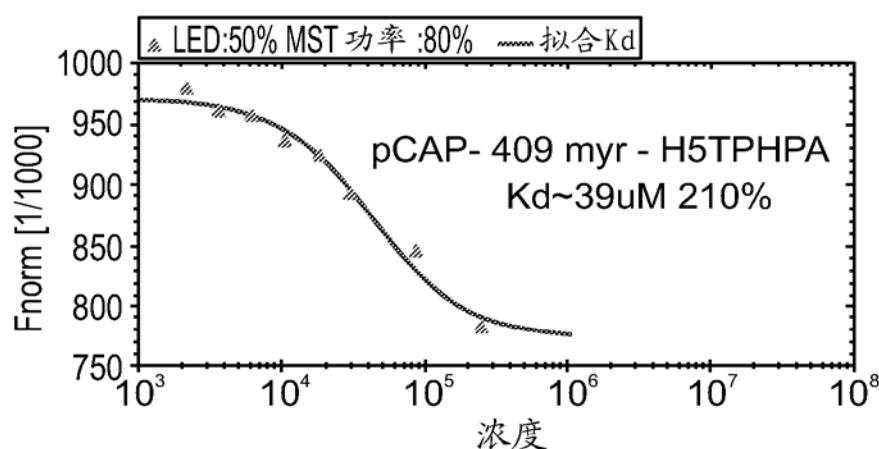


图 3K

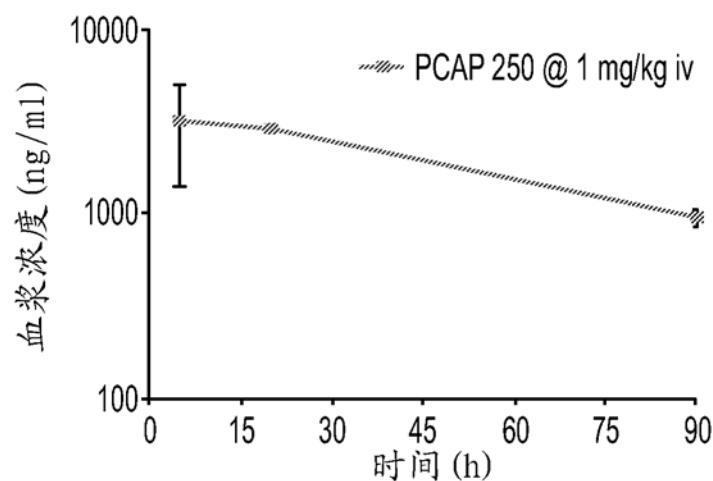


图 4A

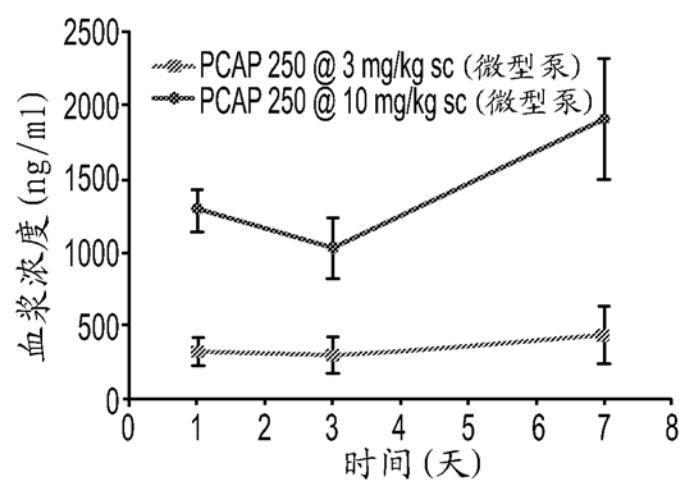


图 4B

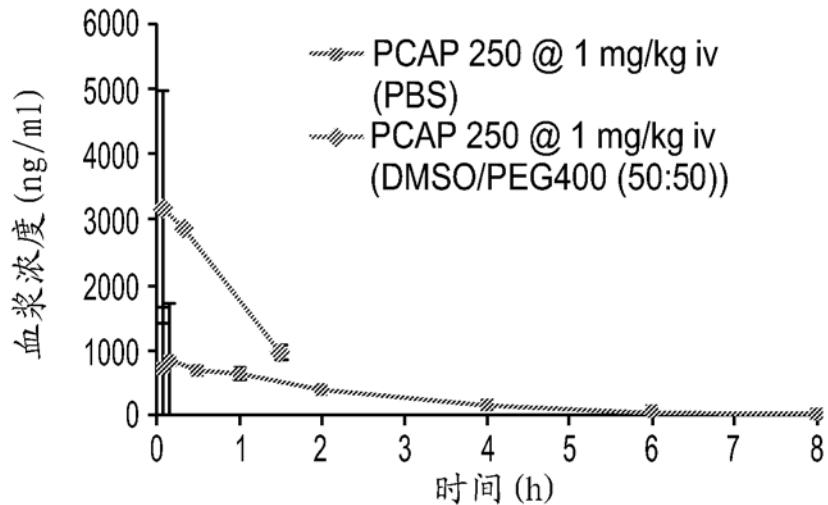


图 4C

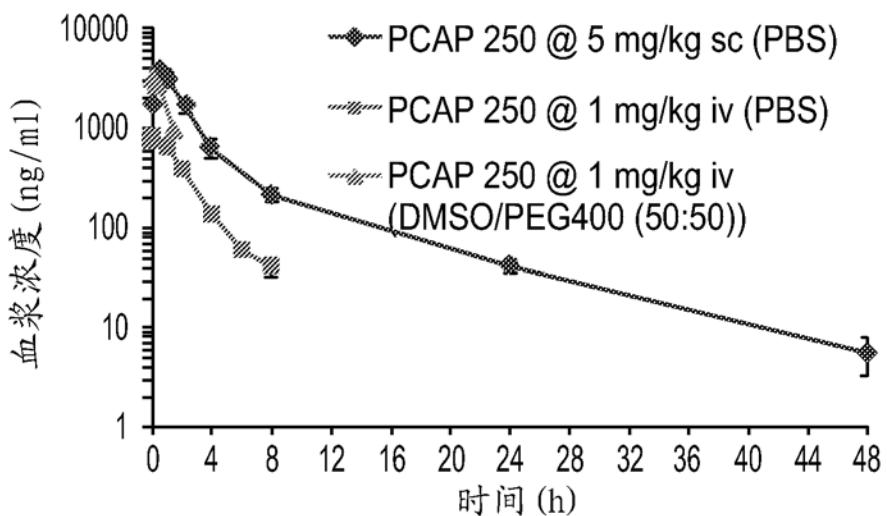


图 4D

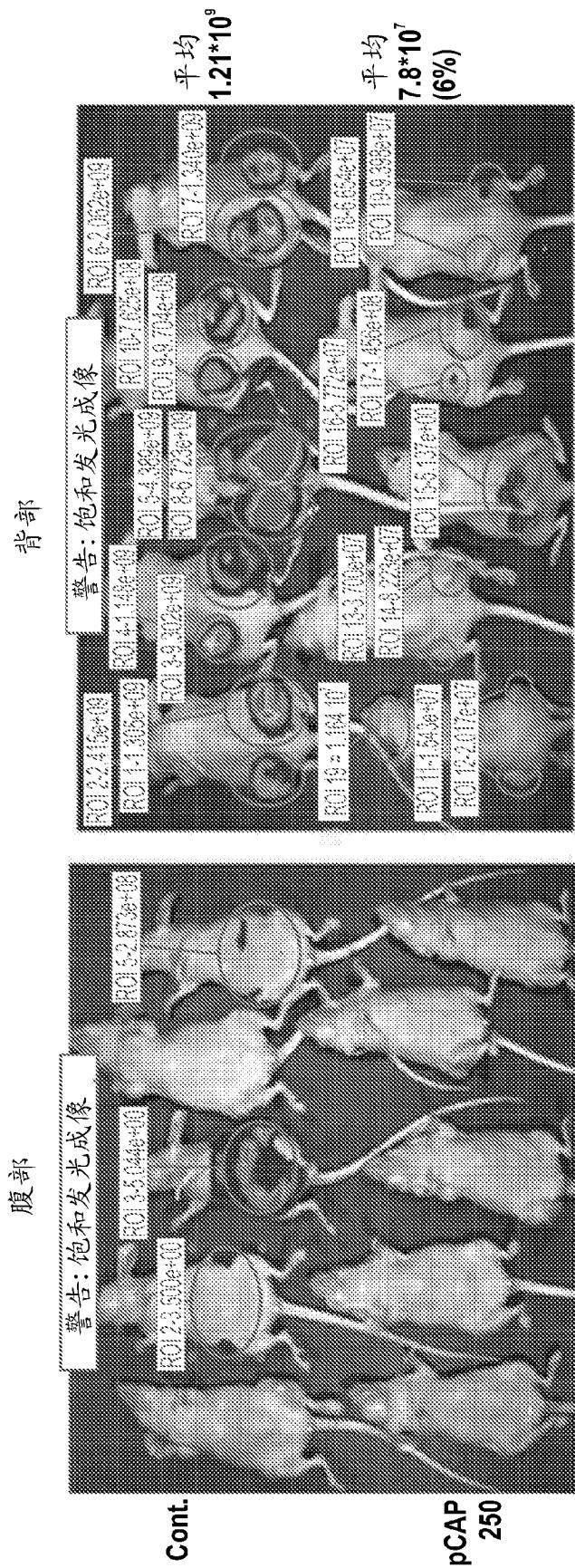


图 5A

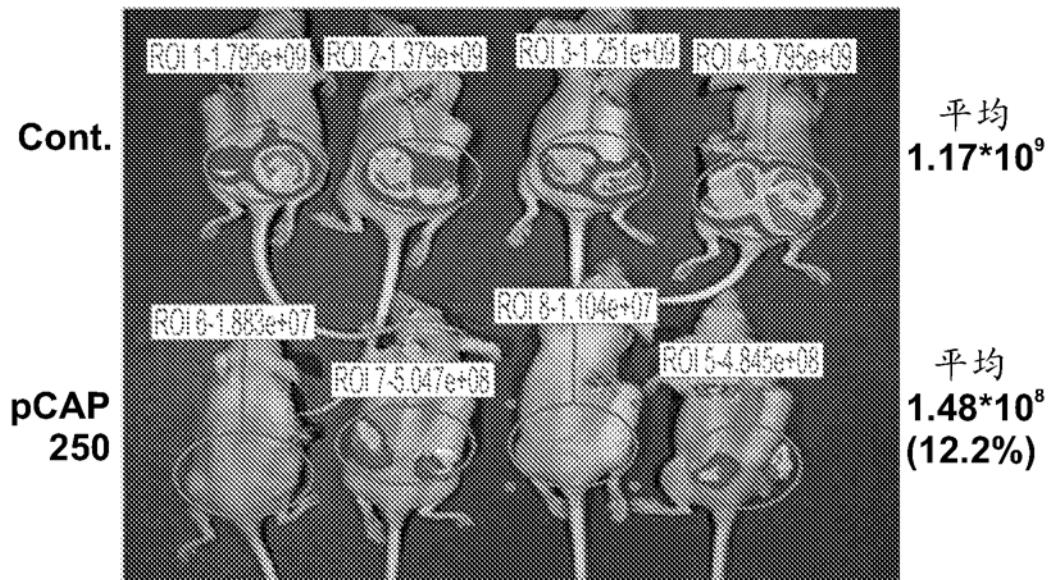


图 5B

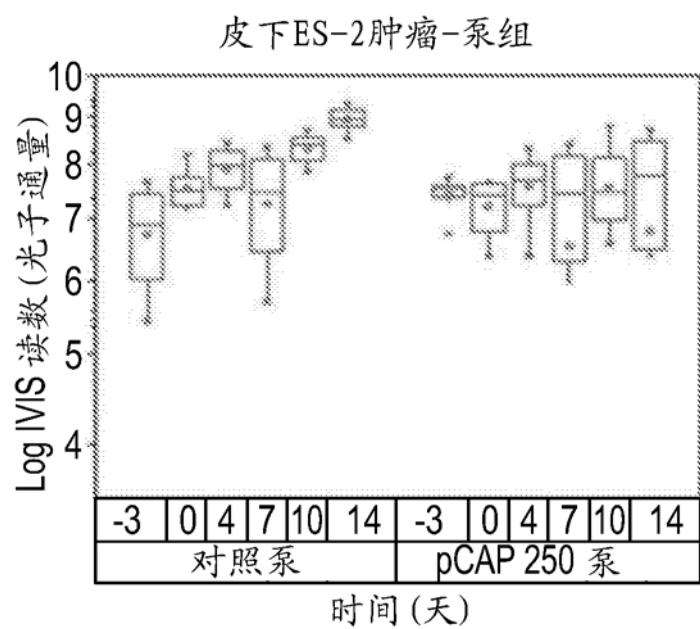


图 5C

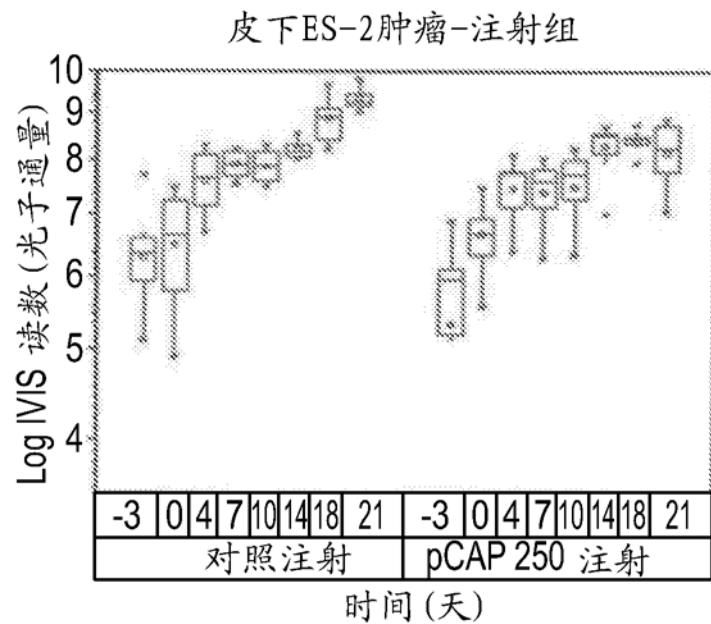
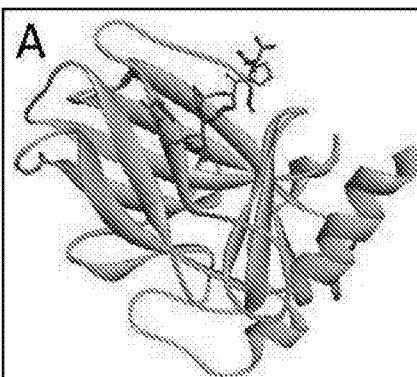


图 5D

图 6A



A:LYS101:NZ - S:ASP10:OD1  
 A:THR102:N - S:ASP10:OD1  
 A:THR102:OG1 - S:ASP10:OD1  
 A:PHE113:N - B:THR6:OG1  
 A:TRP146:NE1 - B:SER5:OG  
 B:SER5:OG - B:THR6:OG1  
 B:HIS8:ND1 - B:THR6:O  
 A:LYS101:CA - B:ASP10:OD2  
 A:GLY112:CA - B:SER5:OG  
 A:GLY112:CA - B:THR6:OG1  
 B:HIS4:CE1 - B:THR6:OG1  
 B:PRO9:CD - A:PRO128:O  
 A:ARG110:NH1 - B:HIS4:N  
 B:HIS4:ND1 - B:SER5:N  
 B:HIS4:ND1 - B:THR6:N  
 B:HIS4:N - A:TRP146  
 A:TVR126:OH - B:HIS8  
 B:HIS4:CA - A:TRP146  
 A:TRP146 - B:HIS4  
 B:HIS4 - A:TRP146  
 S:HIS4 - A:ARG110  
 S:HIS4 - B:PRO7

图 6B

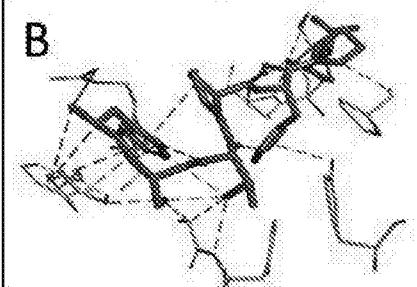


图 6C

C

B:HIS4:N - A:GLU286:OE1 A:THR118:N - B:PRO7:O A:THR118:OG1 - B:THR6:OG A:SER127:OG - B:SERS5:OG A:ARG282:NH1 - B:THR6:OG1 A:ARG282:NH2 - B:SERS5:OG A:ARG282:NH2 - B:THR6:OG1 B:HIS4:ND1 - A:GLU286:OE1 B:SERS5:N - A:GLU286:OE1 B:SERS5:OG - A:GLU286:OE1 B:SERS5:OG - B:THR6:OG1 B:THR6:OG1 - A:TYR126:O A:HIS115:CE1 - B:PRO7:O A:PRO128:CE1 - B:THR6:OG1 B:HIS4:ND1 - B:THR6:N A:HIS115:NE2 - B:THR6:O A:GLU286:OE1 - B:HIS4 A:HIS115 - B:PRO9 B:HIS4 - B:PRO7	A:THR118:OG1 - B:THR6:OG1 A:ARG283:NH2 - B:THR6:OG1 A:ARG283:NH2 - B:THR6:OG1 B:HIS4:ND1 - B:SERS5:OG B:SERS5:OG - A:GLY117:O B:SERS5:OG - B:THR6:OG1 B:THR6:OG1 - A:GLY117:O B:HIS4:ND1 - B:PRO9:O B:HIS8:CD2 - B:THR6:O B:HIS4:ND1 - B:SERS5:N B:HIS4:ND1 - B:THR6:N A:GLU286:OE1 - B:HIS8 B:THR6:C,O:PRO7:N - B:HIS4 B:HIS8 - A:ALA129	B:HIS4:N - A:ASP281:OD1 A:ASN239:ND2 - B:THR6:O A:GLY244:N - B:ASP18:OB1 A:ALA275:N - B:THR6:OG1 A:ARG280:NH2 - B:SERS5:O B:HIS4:ND1 - A:ASP281:OD1 B:HIS4:ND1 - A:ASP281:OD2 B:SERS5:N - A:ASP281:OD1 B:SERS5:OG - A:ASP281:OD2 B:THR6:N - A:ASP281:OD2 B:THR6:OG1 - A:ASP281:OD2 B:HIS8:N - A:SER241:O B:HIS8:ND1 - B:PRO9:O A:MET243:CA - B:ASP18:OD2 B:HIS4:CE1 - B:THR6:OG1 B:SERS5:CB - A:THR284:OG1 B:HIS4:ND1 - B:SERS5:N B:HIS4:ND1 - B:THR6:N A:ASN239:OD1 - B:HIS4:NE2 B:HIS4 - A:ARG273 B:HIS4 - A:CYS275 B:HIS4 - B:PRO7	A:ARG110:NH1 - B:ASP10:OD2 A:GLN104:NE2 - B:ASP10:OD1 A:GLN104:NE2 - B:ASP10:OD2 A:ARG110:NH2 - B:HIS8:O A:LEU111:N - B:HIS8:NE2 A:PHE113:N - B:THR6:O B:HIS4:ND1 - A:HIS115:O B:SERS5:OG - A:GLN144:OE1 B:THR6:N - A:PHE113:O B:THR6:OG1 - A:PHE113:O B:HIS8:N - A:LEU111:O B:HIS8:ND1 - B:PRO9:O A:LEU114:CA - B:HIS4:O B:HIS8:CD2 - A:LEU111:O A:TRP146 - B:PRO7 A:TRP146 - B:PRO7 B:HIS8 - A:ARG110
--	--	--	---

图 6(续1)

A:SER241:OG - B:SERS:O A:ARG273:NH1 - B:PRO7:O A:ARG273:NH2 - B:THR8:O A:ARG273:NH2 - B:PRO7:O A:ALA276:N - B:SERS:NE2 B:SERS:OG - B:THR8:OG1 B:THR8:OG1 - A:ASP281:OD1 B:THR8:OG1 - B:HIS4:NE2 B:HIS4:CE1 - B:SERS:OG B:PRO7:CD - A:SER241:OG B:PRO7:CD - B:SERS:O A:ARG280:NH2 - B:HIS4:N A:ARG280:NE - B:HIS4:ND1 A:ARG280:NH2 - B:HIS4:ND1 A:ARG273:NH2 - B:HIS4 A:THR284:OG1 - B:HIS4 B:SERS:OG - B:HIS4 B:THR8:N - B:HIS4	A:LYS120:NZ - B:ASP10:OD1 A:ARG283:NH1 - B:ASP10:OD2 A:LYS120:NZ - B:ASP10:OC1 A:ARG288:NE - B:HIS8:O B:SERS:OG - A:ASP281:OD2 B:HIS8:ND1 - B:PRO8:O A:ARG283:CD - B:ASP10:OB2 B:HIS4:CE1 - B:SERS:OG A:ALA276:N - B:HIS4:ND1 A:CYS277:N - B:HIS4 B:THR8:N - B:HIS4 A:CYS275:SG - B:HIS4 B:HIS4 - A:ALA276 B:HIS4 - A:ASP280 B:HIS4 - B:PRO7	A:ARG155:NH1 - B:ASP10:OB2 A:ARG155:NH2 - B:SERS:OG A:ASN210:ND2 - B:PRO7:O A:SER215:OG - B:HIS8:NE2 B:SERS:OG - A:GLU258:OE2 B:SERS:OG - B:THR8:OG1 B:HIS8:ND1 - B:THR8:O B:HIS4:CE1 - B:THR8:OG1 A:ARG283:CD - B:ASP10:OB2 B:HIS4:CE1 - A:THR211:OG1 B:PRO8:CD - A:ASP288:OB1 B:HIS4:ND1 - B:THR8:N B:HIS4:ND1 - B:HIS8:N A:ARG158:NH1 - B:HIS8 A:ASP208:OD1 - B:HIS8 B:SERS:OG - B:HIS4 B:THR8:N - B:HIS4 B:THR8:OG1 - B:HIS8 B:PRO9 - A:LEU206 B:HIS4 - B:PRO7	A:ARG155:NH1 - B:ASP10:OD1 A:ARG209:NH1 - B:ASP10:OD2 A:ARG155:NH1 - B:ASP10:OD1 A:ARG155:NH2 - B:PRO9:O A:ARG158:NH1 - B:THR8:OG1 A:ARG158:NH2 - B:HIS4:NE2 A:ARG158:NH2 - B:SERS:OG A:ARG158:NH2 - B:THR8:OG1 B:SERS:OG - A:GLU258:OE1 B:THR8:OG1 - B:HIS8:O B:HIS8:N - A:ASN210:OD1 B:HIS8:ND1 - B:ASP10:OC2 A:ARG209:CD - B:ASP10:OC2 A:GLY282:CA - B:PRO9:O B:HIS4:CD2 - B:THR8:O B:SERS:OG - B:HIS4 B:THR8:N - B:HIS4 A:GLY282:C,O;ASN263:N - B:HIS4 B:HIS4 - A:LEU206
A:ARG156:NH1 - B:ASP10:OD2 A:ARG156:NH1 - B:PRO9:O A:ARG156:NH2 - B:HIS8:O A:ARG158:NH3 - B:THR8:OG1 A:ASP267:NH1 - B:SERS:OG A:ARG267:NH2 - B:THR8:OG1 B:SERS:OG - B:THR8:OG1 B:HIS8:N - B:THR8:O B:HIS8:ND1 - B:THR8:O A:ARG156:CD - B:ASP10:OD2 B:HIS4:CE1 - B:THR8:OG1 A:ARG158:NH2 - B:HIS8:ND1 B:HIS4:ND1 - B:SERS:N B:HIS4:ND1 - B:THR8:N A:ARG158:NH1 - B:HIS8 A:ASP208:OD2 - B:HIS8 A:ASN210:ND2 - B:HIS8 B:THR8:N - B:HIS4 B:THR8:OG1 - B:HIS4 B:THR8:O - B:HIS4 B:HIS4 - A:MET160 B:HIS8 - A:MET160 B:HIS8 - A:ARG213 B:HIS4:N	A:ARG213:NH2 - B:ASP10:OD A:VAL97:N - B:PRO9:O A:ARG158:NH1 - B:THR8:O A:ARG213:NH1 - B:ASP10:OC A:ARG213:NH2 - B:ASP10:OC B:SERS:OG - A:GLU258:OE1 B:HIS8:N - A:THR211:OG1 B:ASP10:N - A:ASN210:O A:GLY282:CA - B:SERS:O B:HIS4:CE1 - B:THR8:O B:PRO9:CD - B:PRO7:O A:ARG273:CD - B:THR8:OG1 A:CYS275:CA - B:SERS:OG B:HIS4:CE1 - A:THR284:OG1 B:HIS4:CE1 - B:THR8:OG1 B:SERS:CB - A:ASN239:OD1 B:HIS4:ND1 - B:SERS:N B:HIS4:ND1 - B:THR8:N A:THR284:OG1 - B:HIS4 B:THR8:N - B:HIS4 B:HIS4 - B:PRO7	B:HIS4:N - A:ASP281:OD1 A:SER241:OG - B:SERS:O A:ARG242:NE - B:PRO7:O A:ARG248:NH2 - B:PRO7:O A:ARG248:NH1 - B:SER5:OG A:CYT255:SG - B:SERS:OG B:HIS4:ND1 - A:ASP281:OD1 B:SERS:N - A:ASP281:OD1 B:THR8:OG1 - A:GLU285:OE2 A:ARG273:CD - B:THR8:OG1 A:CYS275:CA - B:SERS:OG B:HIS4:CE1 - A:THR284:OG1 B:HIS4:CE1 - B:THR8:OG1 B:SERS:CB - A:ASN239:OD1 B:HIS4:ND1 - B:SERS:N B:HIS4:ND1 - B:THR8:N A:ALA276:N - B:HIS8 B:SERS:N - A:HIS178 B:SERS:OG - A:HIS178 A:GLY242:SG - B:HIS4 A:CYS275:SG - B:HIS4 A:HIS178 - B:HIS4 A:HIS179 - B:HIS4 B:THR8:C,O;PRO7:N - B:HIS4 B:HIS4 - B:PRO7 B:HIS8 - A:ALA276	A:ARG280:NH2 - B:ASP10:OD2 A:ASN239:ND2 - B:PRO7:O A:CYS242:SG - B:THR8:O A:MET243:N - B:THR8:OG1 A:ARG280:NE - B:ASP10:OC1 A:ARG280:NH2 - B:ASP10:OC2 B:HIS4:ND1 - A:HIS178:NE2 B:HIS4:ND1 - B:SERS:OG B:SERS:OG - B:THR8:OG1 B:HIS4:CE1 - B:THR8:OG1 B:PRO9:CD - A:ASN239:OD1 A:ASN239:ND3 - B:HIS8:ND1 B:HIS4:ND1 - B:SER5:N B:HIS4:ND1 - B:THR8:N A:ALA276:N - B:HIS8 B:SERS:N - A:HIS178 B:SERS:OG - A:HIS178 A:GLY242:SG - B:HIS4 A:CYS275:SG - B:HIS4 A:HIS178 - B:HIS4 A:HIS179 - B:HIS4 B:THR8:C,O;PRO7:N - B:HIS4 B:HIS4 - B:PRO7 B:HIS8 - A:ALA276

图 6(续2)

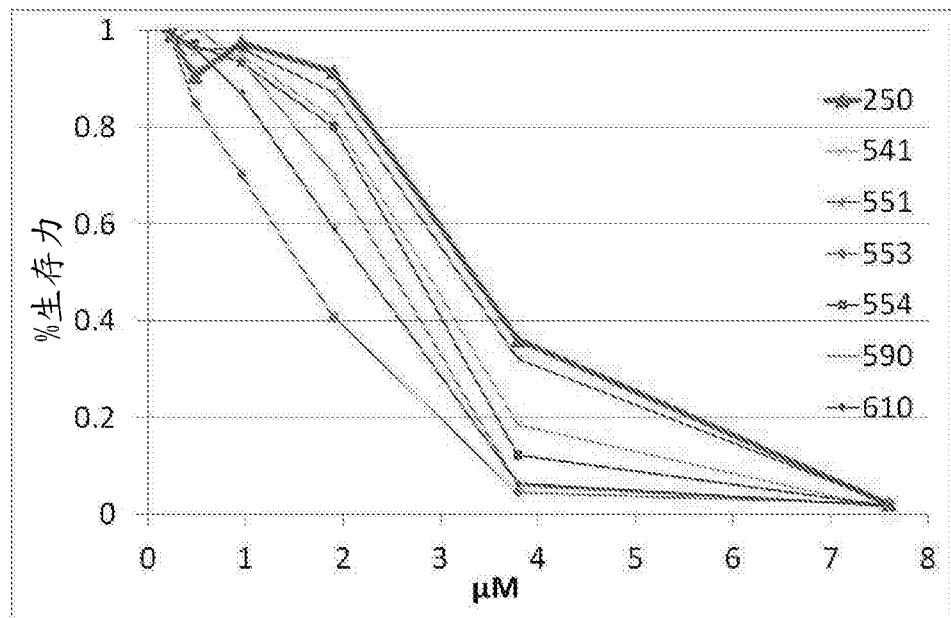


图 7

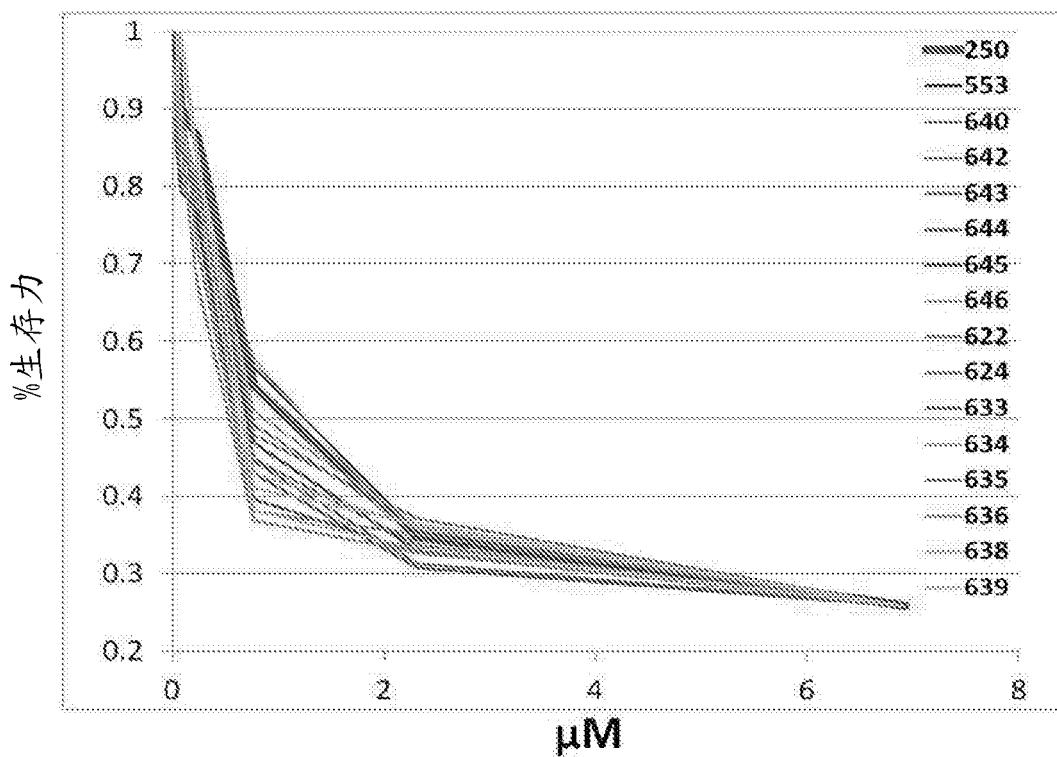
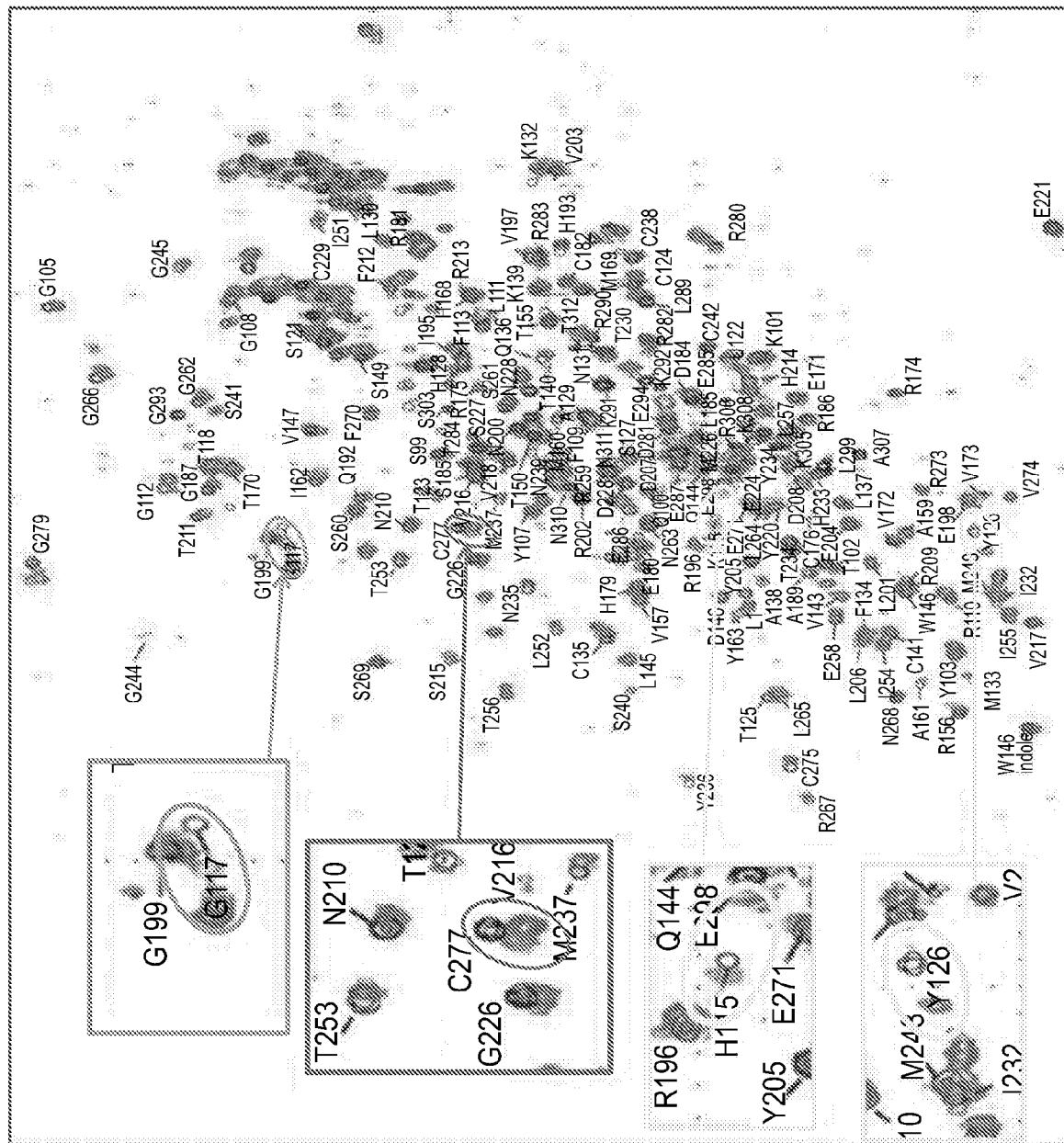


图 8



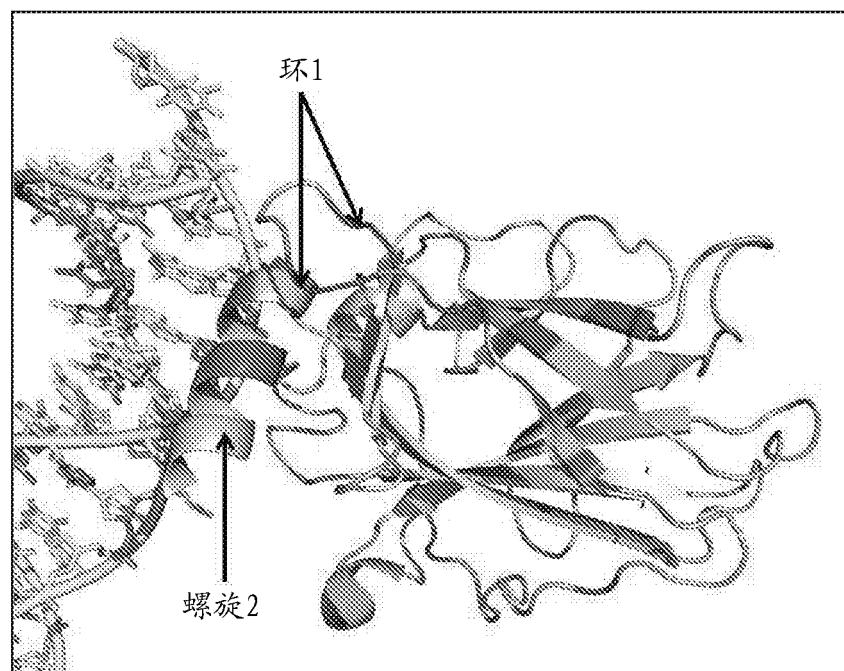


图 10

图 11A

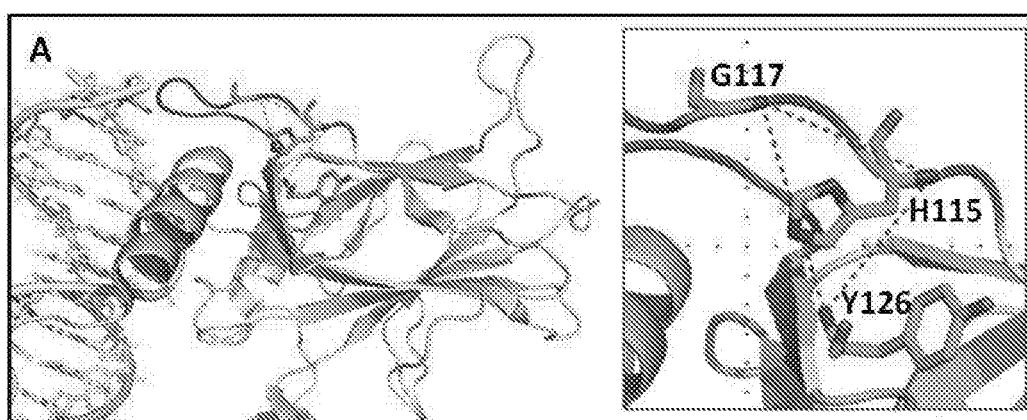
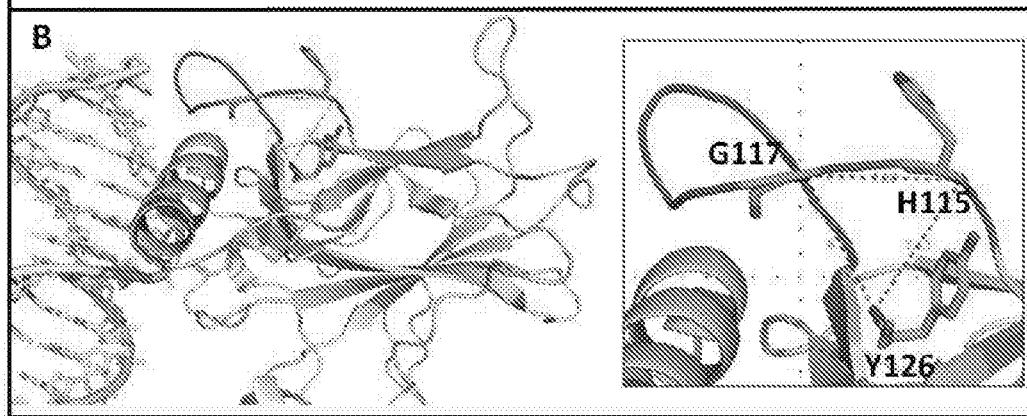


图 11B



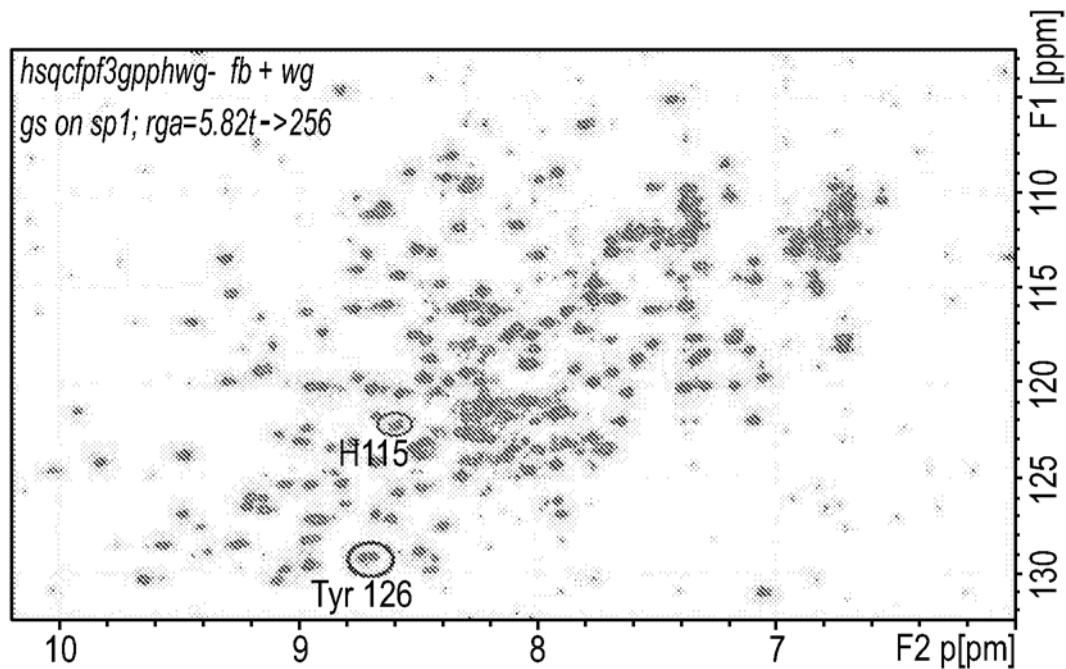


图 12

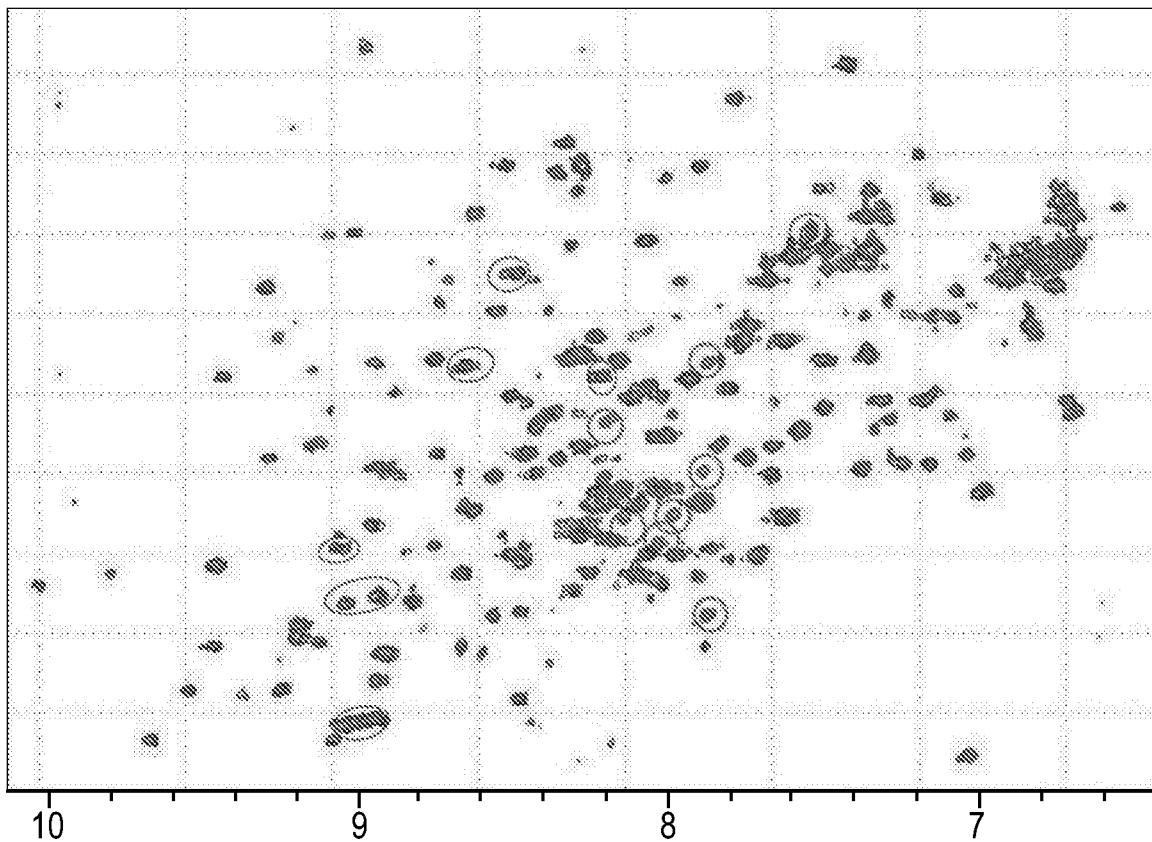


图 13

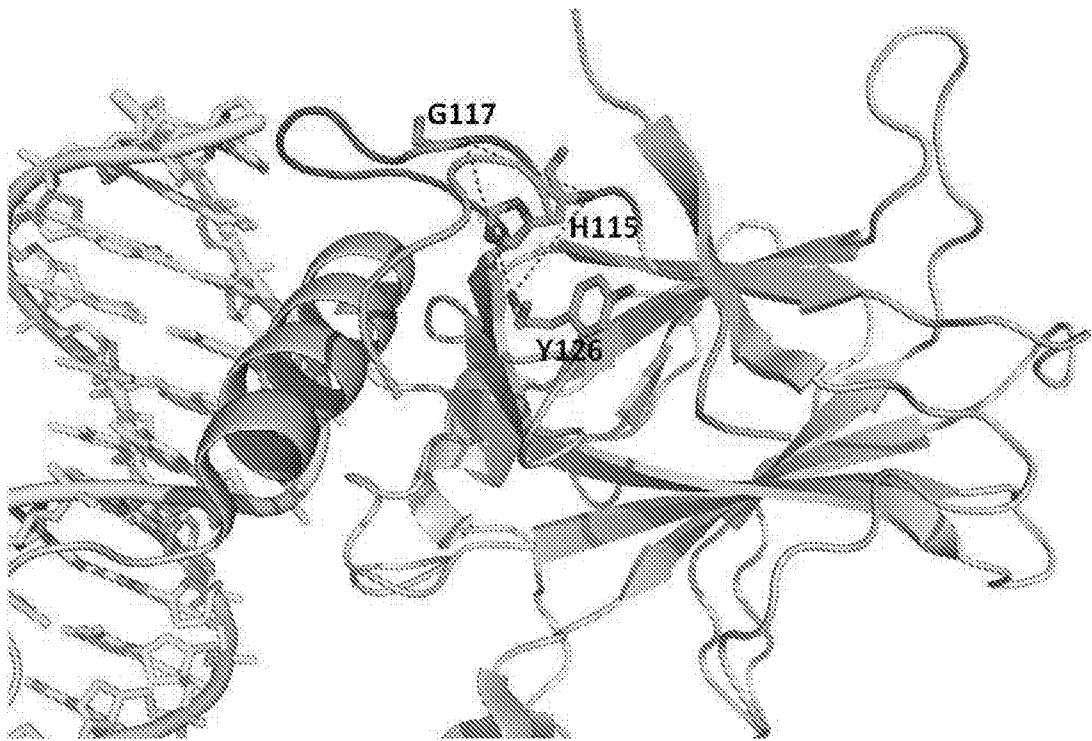


图 14