



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102574909 A

(43) 申请公布日 2012. 07. 11

(21) 申请号 201080030096. 6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 05. 05

C07K 14/81 (2006. 01)

(30) 优先权数据

C07K 14/435 (2006. 01)

0907698. 5 2009. 05. 05 GB

61/250, 412 2009. 10. 09 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 01. 04

(86) PCT申请的申请数据

PCT/GB2010/000889 2010. 05. 05

(87) PCT申请的公布数据

W02010/128285 EN 2010. 11. 11

(71) 申请人 自然环境研究会

地址 英国英格兰威尔特郡

(72) 发明人 R·曼朱纳塔·基尼 许祖尧

昆奇塔帕丹姆·斯瓦米纳坦

库玛·顺德拉墨尔西

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

代理人 张国梁

权利要求书 3 页 说明书 89 页 附图 21 页

(54) 发明名称

修饰丝氨酸蛋白酶抑制剂的方法

(57) 摘要

本发明涉及修饰丝氨酸蛋白酶抑制剂以获得或增强多种理想性质中的任一项的方法,所述性质包括抑制程度、丝氨酸蛋白酶抑制剂被靶丝氨酸蛋白酶切割之后抑制的维持、与丝氨酸蛋白酶的结合速度、中和以及结合亲和性。本发明还涉及此类修饰的产物和此类产物的用途,尤其是,它们在治疗中的用途。

1. 产生修饰的丝氨酸蛋白酶抑制剂 (SPI) 的方法, 所述修饰的丝氨酸蛋白酶抑制剂显示出靶丝氨酸蛋白酶 (SP) 的增强的抑制, 所述方法包括: 修饰所述 SPI 以使所述 SPI 与其靶 SP 的结合使所述靶 SP 的催化三联体中的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子移位。

2. 权利要求 1 的方法, 其中所述方法包括: 将能够使所述靶 SP 的催化三元组的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子移位的一个或多个氨基酸残基导入 SPI。

3. 权利要求 1 或权利要求 2 的方法, 其中所述方法产生修饰的 SPI, 其显示出延长的抑制持续时间。

4. 权利要求 1-3 任一项的方法, 其中所述的一个或多个导入的氨基酸残基是通过置换或插入导入的。

5. 权利要求 2-4 任一项的方法, 其中所述的能够使靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基或其一个或多个原子移位的一个或多个氨基酸残基包括组氨酸残基。

6. 权利要求 5 的方法, 其中所述一个或多个导入的氨基酸包括甲硫氨酸-组氨酸序列。

7. 权利要求 6 的方法, 其中所述一个或多个导入的氨基酸包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸序列。

8. 权利要求 7 的方法, 其中所述一个或多个导入的氨基酸包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸-苏氨酸序列。

9. 权利要求 1-8 任一项的方法, 其中靶丝氨酸蛋白酶的催化三联体中被移位的一个或多个残基包括催化性丝氨酸残基。

10. 权利要求 1-8 任一项的方法, 其中所述方法进一步包括修饰 SPI 使其能被中和的步骤, 包括: 将离子电荷区域导入 SPI, 其中所述离子电荷区域能够与中和试剂上的相反离子电荷区域相互作用。

11. 权利要求 10 的方法, 其中将所述导入的离子电荷区域导向 SPI 的羧基末端。

12. 权利要求 10 或权利要求 11 的方法, 其中所述导入的离子电荷区域是阴离子电荷区域。

13. 权利要求 10-12 任一项的方法, 其中所述导入的离子电荷区域包括一个或多个酸性残基。

14. 权利要求 13 的方法, 其中所述一个或多个酸性残基包括一个或多个谷氨酰胺残基。

15. 权利要求 10-14 任一项的方法, 其中所述中和试剂是硫酸精蛋白。

16. 根据权利要求 1-15 任一项的修饰 SPI 的方法, 其中所述 SPI 是凝血酶抑制剂。

17. 根据权利要求 16 的修饰 SPI 的方法, 其中所述 SPI 选自 SEQ ID NO:14 和 17-153 中的任一项组成的组。

18. 通过前述权利要求任一项的方法可获得的或获得的修饰的 SPI, 或其片段或功能等同物。

19. 根据权利要求 18 任一项的修饰的 SPI, 其中所述修饰的 SPI 是凝血酶抑制剂。

20. 权利要求 19 的修饰的 SPI, 其包含下列共有序列: N-末端肽)-X₁-H-X₂-(G)_n-(外部位点 I 结合肽) (SEQ ID NO:771)。

21. 根据权利要求 19 或权利要求 20 的修饰的 SPI 或其片段或功能等同物,其包含选自 SEQ ID NO:158-770 任一项的序列或由选自 SEQ ID NO:158-770 任一项的序列组成。

22. 编码根据权利要求 18-21 任一项的修饰的 SPI 的核酸分子,或在高度严格杂交条件下与编码权利要求 18-21 任一项的修饰的 SPI 的核酸分子杂交的反义核酸分子。

23. 包含权利要求 22 的核酸序列的载体。

24. 包含权利要求 23 的载体或权利要求 22 的核酸分子的宿主细胞。

25. 抑制靶 SP 的方法,包括向受试者施用权利要求 18-21 任一项的修饰的 SPI。

26. 治疗患有凝血病的受试者或预防受试者患上凝血病的方法,包括施用权利要求 19 的修饰的凝血酶抑制剂。

27. 在受试者中中和凝血酶抑制的方法,包括:

a) 施用根据权利要求 19 的修饰的凝血酶抑制剂;和

b) 然后向受试者施用足以引起凝血酶抑制的中和的量的硫酸精蛋白。

28. 显示出靶 SPI 的增强的抑制的修饰的 SPI,其中 SPI 与其靶 SP 的结合使所述靶 SP 的催化三联体中的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子移位。

29. 权利要求 28 的修饰的 SPI,其包括能够使所述靶 SP 的催化三联体的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子移位的一个或多个氨基酸残基。

30. 权利要求 29 的修饰的 SPI,其中所述 SPI 显示出延长的抑制持续时间。

31. 权利要求 29 的修饰的 SPI,其中所述能够使靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基或其一个或多个原子移位的一个或多个氨基酸残基包括组氨酸残基。

32. 权利要求 29 的修饰的 SPI,其中所述能够使靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基移位的一个或多个氨基酸残基包括甲硫氨酸-组氨酸序列。

33. 权利要求 32 的修饰的 SPI,其中所述能够使靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基移位的一个或多个氨基酸残基包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸序列。

34. 权利要求 33 的修饰的 SPI,其中所述能够使靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基移位的一个或多个氨基酸残基包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸-苏氨酸序列。

35. 权利要求 28-34 任一项的修饰的 SPI,其中所述靶丝氨酸蛋白酶的催化三联体中被移位的一个或多个氨基酸残基包括催化性丝氨酸残基。

36. 权利要求 28-34 任一项的修饰的 SPI,其进一步包括离子电荷区域,其中所述离子电荷区域能够与中和试剂上的相反离子电荷区域相互作用。

37. 权利要求 36 的修饰的 SPI,其中所述离子电荷区域向 SPI 的羧基末端放置。

38. 权利要求 36 的修饰的 SPI,其中所述离子电荷区域是阴离子电荷区域。

39. 权利要求 36 的修饰的 SPI,其中所述离子电荷区域包括一个或多个酸性残基。

40. 权利要求 39 的修饰的 SPI,其中所述一个或多个酸性残基包括一个或多个谷氨酰胺残基。

41. 权利要求 36-40 任一项的修饰的 SPI,其中所述中和试剂是硫酸精蛋白。

42. 权利要求 28-41 任一项的修饰的 SPI,其中所述修饰的 SPI 是凝血酶抑制剂。

43. 权利要求 42 的修饰的 SPI,其含有下列共有序列:

N-末端肽)-X₁-H-X₂-(G)_n-(外部位点 I 结合肽)(SEQ ID NO:771)。

44. 修饰的 SPI 或其片段或功能等同物,其包含选自 SEQ ID NO:158-770 任一项的序

列或由选自 SEQ ID NO :158-770 任一项的序列组成。

45. 编码根据权利要求 28-44 任一项的修饰的 SPI 的核酸分子,或在高度严格杂交条件下与编码根据权利要求 28-44 任一项的修饰的 SPI 的核酸分子杂交的反义核酸分子。

46. 包含权利要求 45 的核酸序列的载体。

47. 包含权利要求 46 的载体或权利要求 45 的核酸分子的宿主细胞。

48. 抑制靶 SP 的方法,包括施用权利要求 28-44 的修饰的 SPI。

49. 治疗患有凝血病的受试者或预防受试者患上凝血病的方法,包括施用权利要求 42 的修饰的凝血酶抑制剂。

50. 在受试者中中和凝血酶抑制的方法,包括:

a) 施用根据权利要求 42 的修饰的凝血酶抑制剂;和

b) 然后向受试者施用足以引起凝血酶抑制的中和的量的硫酸精蛋白。

修饰丝氨酸蛋白酶抑制剂的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及修饰丝氨酸蛋白酶抑制剂以获得或增强多种理想性质中的任一项的方法。本发明还涉及此类修饰的产物和此类产物的用途,尤其是,它们在治疗中的用途。

背景技术

[0002] 丝氨酸蛋白酶,也称作丝氨酸内肽酶,是在活性位点包含丝氨酸残基的蛋白消化酶。这些酶在自然界是广泛的,并且在多种生物学功能、包括消化、血液凝固、免疫系统和炎症中发挥作用。

[0003] 由于丝氨酸蛋白酶的广泛分布和功能,这些酶的抑制剂是常见的。在自然界可以发现很多蛋白性的丝氨酸蛋白酶抑制剂,并且已经开发了用于研究和治疗的很多合成的、化学的丝氨酸蛋白酶抑制剂。

[0004] 凝血酶是在血液凝固中发挥重要作用的丝氨酸蛋白酶家族的成员;通过该过程,响应于血管损伤,丝氨酸蛋白酶的循环酶原通过有限蛋白水解被依次激活以产生纤维蛋白凝块。凝血酶与多数酶原和它们的辅因子相互作用,在血液凝固中发挥多种促凝剂和抗凝剂作用(Huntington(2005),和 Di Cera(2003))。作为促凝剂蛋白酶,在起始期产生的最初的痕量凝血酶激活因子 V(FV) 和因子 VIII(FVIII) 以提供阳性回馈,引起凝血酶的爆发。凝血酶也可以激活因子 XI,激发内在途径。凝血酶将纤维蛋白原切割为纤维蛋白,形成不可溶的凝块。通过凝血酶激活的因子 XIII 驱动的共价交联,纤维蛋白聚合物被进一步加固和稳定化。凝血酶还促成血小板栓的产生,可能是通过两个机制:(a) 其通过与蛋白酶激活的受体(PAR)和糖蛋白 V 相互作用而激活血小板;和(b) 通过灭活 ADAMTS13,其防止血小板栓的脱稳定化,ADAMTS13 是具有 1 型凝血酶敏感蛋白基序的解离素和金属蛋白酶,其切割 von Willebrand 因子(VWF)。作为抗凝剂蛋白酶,凝血酶在存在辅因子血栓调节蛋白的情况下激活蛋白 C(APC)。APC 灭活因子 Va(FVa) 和因子 VIIIa(FVIIIa),下调凝血酶的产生(Huntington(2005), Di Cera(2003), Davie 等人(1991), Davie(2003) 和 Lane 等人(2005))。

[0005] 由于凝血酶的重要作用,其是抑制以控制凝结级联的主要靶标,很多凝血酶抑制剂已经被用于治疗和研究很多年了。肝素是原型的凝血酶抑制剂,其作为凝血酶的间接抑制剂发挥作用,意思是其通过抗凝血酶复合物作用,不与凝血酶的活性位点直接相互作用。凝血酶的间接抑制剂仅能与可溶性凝血酶相互作用,因此,一旦形成凝块,则不能抑制凝血酶。

[0006] 更近期以来,已经分离和/或开发了多种凝血酶直接抑制剂,包括蛭素(hirudin)、比伐卢定(bivalirudin)、阿加曲班(argatroban)和达比加群酯(dabigatran etexilate)。这些具有能够抑制可溶形式和与纤维蛋白结合的形式凝血酶的治疗性优点。然而,此类直接抑制剂具有某些性质,远远达不到最佳。例如,蛭素引起出血风险、依赖于肾功能的药代动力学、缺乏解毒药、有免疫原性和反跳性高凝性。比伐卢定被蛋白水解和肾途径的组合清除,其具有可忽略的免疫原性潜能,但仍具有亚适治疗性质。

[0007] 鉴于丝氨酸蛋白酶抑制剂在治疗上的重要性,需要鉴定显示出改进的性质的另外的丝氨酸蛋白酶抑制剂。特别地,需要鉴定这样的凝血酶直接抑制剂:具有抑制可溶形式和与纤维蛋白结合形式的凝血酶的能力但不具有与目前可获得的凝血酶直接抑制剂相关的缺点。

发明内容

[0008] 本发明提供了修饰的丝氨酸蛋白酶抑制剂,产生修饰的丝氨酸蛋白酶抑制剂的方法,以及使用修饰的丝氨酸蛋白酶抑制剂例如抑制受试者中的靶丝氨酸蛋白酶的方法。

[0009] 因此,在第一方面,本发明提供了产生显示出靶丝氨酸蛋白酶(SP)的增强的抑制的修饰的丝氨酸蛋白酶抑制剂(SPI)的方法,包括:修饰所述SPI以使所述SPI与其靶SP的结合移位靶SP的催化三联体中的一个或多个氨基酸残基,或所述氨基酸残基的一个或多个原子。

[0010] 在该方面的一个实施方式中,该方法包括:将能够移位靶SP的催化三联体的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子的一个或多个氨基酸残基导入SPI。在另一个实施方式中,方法产生修饰的SPI,其显示出延长的抑制持续时间。在一个实施方式中,所述的一个或多个导入的氨基酸残基是通过置换或插入导入的。

[0011] 在该方面的另一个实施方式中,所述的能够移位靶SP的催化三联体的一个或多个残基或其一个或多个原子的一个或多个氨基酸残基包括组氨酸残基。在一个实施方式中,所述一个或多个导入的氨基酸包括甲硫氨酸-组氨酸序列。在另一个实施方式中,所述一个或多个导入的氨基酸包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸序列。在另一个实施方式中,所述一个或多个导入的氨基酸包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸-苏氨酸序列。在一个实施方式中,靶丝氨酸蛋白酶的催化三联体中被移位的一个或多个残基包括催化性丝氨酸残基。

[0012] 在该方面的另一个实施方式中,该方法进一步包括修饰SPI使其能被中和的步骤,包括:将离子电荷区域导入SPI,其中所述离子电荷区域能够与中和试剂上的相反离子电荷区域相互作用。在一个实施方式中,将所述导入的离子电荷区域导向SPI的羧基末端。在另一个实施方式中,所述导入的离子电荷区域是阴离子电荷区域。在一个实施方式中,所述导入的离子电荷区域包括一个或多个酸性残基。在另一个实施方式中,所述一个或多个酸性残基包括一个或多个谷氨酰胺残基。在另一个实施方式中,所述中和试剂是硫酸精蛋白。

[0013] 在前述方法的示例性实施方式中,SPI是凝血酶抑制剂。在另一个示例性实施方式中,SPI选自SEQ ID NO:14和17-153中的任一项组成的组。

[0014] 在另一个方面,本发明提供了通过任意前述方法可获得的或获得的修饰的SPI,或其片段或功能等同物。在一个实施方式中,所述修饰的SPI是凝血酶抑制剂。在示例性实施方式中,修饰的SPI包含下列共有序列:N-末端肽)-X₁-H-X₂-(G)_n-(外部位点I结合肽)(SEQ ID NO:771)。

[0015] 在另一个方面,本发明提供了显示出靶SP的增强的抑制的修饰的SPI,其中SPI与其靶SP的结合移位靶SP的催化三联体中的一个或多个氨基酸残基,或所述氨基酸残基的一个或多个原子。在该方面的一个实施方式中,修饰的SPI包括能够移位靶SP的催化三联体的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子的一个或多个氨基酸残

基。在另一个实施方式中,修饰的 SPI 显示出延长的抑制持续时间。

[0016] 在该方面的另一个实施方式中,能够移位靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基或其一个或多个原子的一个或多个氨基酸残基包括组氨酸残基。在另一个实施方式中,能够移位靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基的一个或多个氨基酸残基包括甲硫氨酸-组氨酸序列。在另一个实施方式中,能够移位靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基的一个或多个氨基酸残基包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸序列。在另一个实施方式中,能够移位靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基的一个或多个氨基酸残基包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸-苏氨酸序列。在另一个实施方式中,靶丝氨酸蛋白酶的催化三联体中被移位的一个或多个氨基酸残基包括催化性丝氨酸残基。

[0017] 在该方面的另一个实施方式中,修饰的 SPI 进一步包括离子电荷区域,其中所述离子电荷区域能够与中和试剂上的相反离子电荷区域相互作用。在一个实施方式中,离子电荷区域向 SPI 的羧基末端放置。在另一个实施方式中,离子电荷区域是阴离子电荷区域。在一个实施方式中,离子电荷区域包括一个或多个酸性残基。在另一个实施方式中,所述一个或多个酸性残基包括一个或多个谷氨酰胺残基。在示例性实施方式中,所述中和试剂是硫酸精蛋白。在另一个示例性实施方式中,前述修饰的 SPI 是凝血酶抑制剂。在一个实施方式中,修饰的 SPI 含有下列共有序列:N-末端肽)-X₁-H-X₂-(G)_n-(外部位点 I 结合肽)(SEQ ID NO:771)。

[0018] 在另一个方面,本发明提供了包含选自 SEQ ID NO:158-770 任一项的序列的修饰的 SPI,或其片段或功能等同物。在另一个方面,本发明提供了由选自 SEQ ID NO:158-770 任一项的序列组成的修饰的 SPI,或其片段或功能等同物。

[0019] 在另一个方面,本发明提供了编码本文描述的修饰的 SPI 的核酸分子。在另一个方面,本发明提供了在高度严格杂交条件下与编码本文描述的修饰的 SPI 的核酸分子杂交的反义核酸分子。

[0020] 在一个实施方式中,本发明包括载体,其包含:编码本文描述的修饰的 SPI 的核酸序列,或在高度严格杂交条件下与编码本文描述的修饰的 SPI 的核酸分子杂交的反义核酸分子。在另一个实施方式中,本发明提供了包含前述载体和/或前述核酸分子的宿主细胞。

[0021] 在另一个方面,本发明提供了抑制靶 SP 的方法,包括施用如本文描述的修饰的 SPI。在另一个方面,本发明提供了治疗患有凝血病的受试者或预防患者患上凝血病的方法,包括施用如本文描述的修饰的 SPI,例如凝血酶抑制剂。在另一个实施方式中,本发明提供了在受试者中中和凝血酶抑制的方法,包括施用如本文描述的修饰的凝血酶抑制剂,然后向所述受试者施用足以引起凝血酶抑制的中和的量的硫酸精蛋白。

[0022] 本发明的其它特征和优点将通过如下的详细描述和权利要求变得明显。

具体实施方式

[0023] 本发明提供了产生显示出靶丝氨酸蛋白酶(SP)的增强的抑制的修饰的丝氨酸蛋白酶抑制剂(SPI)的方法,包括:修饰所述 SPI 以使所述 SPI 与其靶 SP 的结合移位靶 SP 的催化三联体中的一个或多个氨基酸残基,或所述氨基酸残基的一个或多个原子。

[0024] 如上文所讨论,丝氨酸蛋白酶是切割肽的酶。本领域中接受:这些酶通过催化三联体发挥作用,所述催化三联体存在于酶的活性位点中并且包括丝氨酸残基、组氨酸残基和

天冬氨酸残基。组氨酸和天冬氨酸残基的功能是通过电荷中继系统激活丝氨酸残基,使其变为亲核性的并能够切割底物的裂解键 (scissile bond)。典型的丝氨酸蛋白酶中的催化三联体的残基之间的相互作用显示于图 1。

[0025] 本发明人已经令人惊奇地证明:除了通过常规竞争性抑制剂的方式空间阻断活性位点之外, variegins, 一种丝氨酸蛋白酶凝血酶的直接抑制剂, 也通过打乱凝血酶的催化三联体的残基之间的相互作用而发挥作用, 从而抑制其催化活性。Variegins 是具有 SEQ ID NO:1 所示的氨基酸序列的蛋白质。其是源自蜉的蛋白, 最早描述于 W003/091284。在 W008/155658 中描述了 variegins 与凝血酶结合的能力。然而, 这两篇文献都没有暗示 variegins 打乱凝血酶的催化三联体中的氨基酸之间的相互作用。W003/091284 和 W008/155658 的内容通过引用方式全文并入本文。

[0026] 图 9A 显示了凝血酶的催化三联体的残基的位置和这些残基之间的相互作用, 它们发挥激活催化性丝氨酸残基的功能。图 9B 显示了 variegins 的与催化三联体相互作用的残基, 以及该相互作用对于催化三联体的残基的定位的影响。该图图示性地显示了预料不到的发现: variegins 的组氨酸残基发挥使丝氨酸的 γ O 移位 1.1 Å 的功能, 打乱催化三联体的丝氨酸与组氨酸残基之间的相互作用, 并显著降低凝血酶的活性。据本发明人所知, variegins 是已发现的通过移位靶 SP 的催化三联体中的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子而发挥作用的第一个 SPI。

[0027] 本发明人意识到, variegins 的有力的抗凝血酶活性至少部分是由于凝血酶的活性位点中的催化三联体的打乱, 并且, 实现这一点的机理可以适用于其它丝氨酸蛋白酶抑制剂, 包括凝血酶抑制剂。特别地, 可以通过修饰来改善已知的丝氨酸蛋白酶抑制剂的性质, 从而它们打乱靶丝氨酸蛋白酶的催化三联体的残基之间的相互作用。此类修饰发挥了改善丝氨酸蛋白酶抑制剂性质的功能, 并且克服了现有的丝氨酸蛋白酶抑制剂、尤其是已知的凝血酶直接抑制剂的很多缺点。

[0028] 术语“靶丝氨酸蛋白酶”或“靶 SP”涉及通常被给定的丝氨酸蛋白酶抑制剂抑制的丝氨酸蛋白酶。靶 SP 的一个实例是凝血酶。根据本发明的靶 SP 的其它实例包括凝固因子 FXa、FVIIa、FXIIa、FXIa 和 FIXa。

[0029] 通过本发明的方法修饰的丝氨酸蛋白酶抑制剂或 SPI 可以是直接 SPI 或间接 SPI。术语“直接 SPI”意思是 SPI 在 SP 的活性位点与其靶 SP 相互作用, 不以抗-SP 复合物的一部分存在或通过中间体发挥作用。术语“间接 SPI”意思是 SPI 不与靶 SP 的活性位点直接相互作用。间接 SPI 可以与靶 SP 上的不同于活性位点的位点相互作用, 或者间接 SPI 可以通过包含间接 SPI 的抗-SP 复合物而与靶 SP 上的活性位点或另一个位点相互作用。

[0030] 可以通过本发明的方法修饰的 SPI 的实例包括蛭素类似物 (hirulog) (SEQ ID NO: 14)、Kunitz/BPTI- 型抑制剂 (例如, 牛胰腺蛋白酶抑制剂, 显示于 SEQ ID NO: 776)、蛭素-相关凝血酶抑制剂、serpins、肝素辅因子、 α 1-抗胰蛋白酶样 serpins、kazal 型直接抑制剂和 kunitz 型/STI (大豆胰蛋白酶抑制剂) 抑制剂。可以通过本发明的方法修饰的 SPI 的另外的实例显示于 SEQ ID NO: 17-153。

[0031] “移位的”意思是, 靶 SP 中的氨基酸残基或所述氨基酸残基内的一个或多个原子占据的空间构象不同于在不存在任何外部影响的情况下其通常采纳的空间构象。应该认识到, 此类移位可以是任何方向的。

[0032] 在一个方面,移位可以使靶 SP 的催化三联体的氨基酸残基之间的相互作用被打乱。此类打乱可以是完全的,即,催化三联体的残基不再相互作用;或者其可以是部分的,即,残基之间的相互作用仅为催化三联体的一个或多个残基不被移位时的相互作用强度的 90%,80%,70%,60%,50%,40%,30%,20%,10%或更低。催化三联体的氨基酸残基之间的相互作用的存在可以通过本领域已知的任何方法来测定,例如结晶学或 NMR,计算性方法,包括但不限于:分子力学、分子动力学和对接、氢/氘交换和质谱法。

[0033] 靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子的移位可以打乱靶 SP 的催化三联体的电荷中继系统。

[0034] 在本发明的一个方面,靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基的移位可以包括催化三联体的丝氨酸残基的移位。在一个方面,催化三联体的丝氨酸残基的 γ O 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的丝氨酸残基的 β C 可以被移位。在另一个方面,催化三联体的丝氨酸残基的 α C 可以被移位。

[0035] 在一个方面,催化三联体的丝氨酸残基的原子可以被移位 0.1Å。在其它方面,催化三联体的丝氨酸残基的原子可以被移位 0.2Å, 0.3Å, 0.4Å,

0.5Å, 0.6Å, 0.7Å, 0.8Å, 0.9Å, 1.0Å, 1.1Å, 1.2Å, 1.3Å, 1.4Å, 1.5Å, 1.6Å, 1.7Å, 1.8Å, 1.9Å, 2.0Å, 2.5Å, 3.0Å 或更多。

[0036] 在本发明的一个方面,催化三联体的一个或多个残基的移位可以包括催化三联体的组氨酸残基的移位。在一个方面,催化三联体的组氨酸残基的 γ C 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的组氨酸残基的 δ C 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的组氨酸残基的 ϵ N₂ 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的组氨酸残基的 ζ C 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的组氨酸残基的 δ N₁ 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的组氨酸残基的 δ N₁ 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的组氨酸残基的 β C 可以被移位。在另一个方面,催化三联体的组氨酸残基的 α C 可以被移位。

[0037] 在一个方面,催化三联体的组氨酸残基的原子可以被移位 0.1Å。在其它方面,催化三联体的组氨酸残基的原子可以被移位 0.2Å, 0.3Å, 0.4Å,

0.5Å, 0.6Å, 0.7Å, 0.8Å, 0.9Å, 1.0Å, 1.1Å, 1.2Å, 1.3Å, 1.4Å, 1.5Å, 1.6Å, 1.7Å, 1.8Å, 1.9Å, 2.0Å, 2.5Å, 3.0Å 或更多。

[0038] 在本发明的一个方面,催化三联体的一个或多个残基的移位可以包括催化三联体的天冬氨酸残基的移位。在一个方面,催化三联体的天冬氨酸残基的 γ O 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的天冬氨酸残基的 β C 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的天冬氨酸残基的 α C 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的天冬氨酸残基的 γ C 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的天冬氨酸残基的 δ O₁ 原子可以被移位。在另一个方面,催化三联体的丝氨酸残基的 δ O₂ 原子可以被移位。

[0039] 在一个方面,催化三联体的天冬氨酸残基的原子可以被移位 0.1Å。在其它方面,催化三联体的天冬氨酸残基的原子可以被移位 0.2Å, 0.3Å, 0.4Å,

0.5Å, 0.6Å, 0.7Å, 0.8Å, 0.9Å, 1.0Å, 1.1Å, 1.2Å, 1.3Å, 1.4Å, 1.5Å, 1.6Å, 1.7Å, 1.8Å, 1.9Å, 2.0Å, 2.5Å, 3.0Å 或更多。

[0040] 靶 SP 的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子的移位可以

通过本领域已知的任何方法来测定,例如结晶学或 NMR,计算性方法,包括但不限于:分子力学、分子动力学和对接、氢 / 氘交换和质谱法。

[0041] 在本发明的一个方面,SPI 是蛋白质并且修饰包括将能够移位靶 SP 的催化三联体中的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子的一个或多个氨基酸残基导入 SPI。这些氨基酸残基可以通过与催化三联体中的氨基酸残基相互作用而使它们移位。导入的氨基酸残基可以包括组氨酸残基。此组氨酸残基可以作为除了该组氨酸残基之外的可导入 SPI 中的任何其它序列的一部分而存在。在一个实施方式中,导入的氨基酸可以包括甲硫氨酸-组氨酸(MH)序列。在另一个实施方式中,导入的氨基酸可以包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸(MHK)序列。在另一个实施方式中,导入的氨基酸可以包括甲硫氨酸-组氨酸-精氨酸(MHR)序列。在另一个实施方式中,导入的氨基酸可以包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸-苏氨酸(MHKT)序列。在另一个实施方式中,导入的氨基酸可以包括甲硫氨酸-组氨酸-精氨酸-苏氨酸(MHRT)序列。在另一个实施方式中,导入的氨基酸可以包括甲硫氨酸-组氨酸-赖氨酸-苏氨酸-丙氨酸(MHKTA)序列。在另一个实施方式中,导入的氨基酸可以包括甲硫氨酸-组氨酸-精氨酸-苏氨酸-丙氨酸(MHRTA)序列。

[0042] 也可以导入备选的氨基酸残基,只要它们能够移位靶 SP 的催化三联体的一个或多个残基或其一个或多个原子。当考虑 MHKT 序列时,可以使用例如亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸或丙氨酸替代甲硫氨酸和 / 或赖氨酸,可以使用精氨酸或酪氨酸替代组氨酸,和 / 或,可以使用丝氨酸或丙氨酸替代苏氨酸。

[0043] 在另一个方面,导入的一个或多个氨基酸残基可以包括连接区域。在另一个方面,连接区域可以包括一个或多个氨基酸,例如甘氨酸或丙氨酸。在另一个方面,接头区域可以包括 1、2、3、4、或 5 个甘氨酸残基。在另一个方面,接头区域可以由 1、2、3、4 或 5 个甘氨酸残基组成。

[0044] 在本发明的涉及靶 SP 是凝血酶的方面,产生修饰的 SPI 的方法可以包括导入或维持能够与凝血酶的外部位点 I 相互作用的肽序列。“维持此类肽序列”意指所述肽序列在修饰之前已经存在于 SPI 序列中,并且该序列不通过修饰被打乱或除掉。

[0045] 在一个方面,能够与凝血酶的外部位点 I 相互作用的肽序列可以包括下列序列:

[0046] FEEIPEEYL;

[0047] YEPIPEEA;

[0048] NGDFEEIPEEYL;或

[0049] APPDFEAIPEEYL。

[0050] 相对于未修饰的 SPI,通过本发明的任何方法产生的修饰的 SPI 显示出其靶 SP 的增强的抑制。

[0051] 对于本领域技术人员明显的是,可以使用多种测定法中的任一个来测定 SP 的抑制程度,并确认该修饰增强靶 SP 的抑制。举例而言,当 SP 是凝血酶时,此类测定法可以是胺裂解测定,其中检测在存在 S2238 的情况下,将凝血酶与修饰的凝血酶抑制剂一起温育之后,对硝基苯胺的形成。

[0052] 本发明的修饰的 SPI 可以具有下列 IC_{50} :小于 30nM,小于 25nM,小于 20nM,小于 15nM,小于 14nM,小于 13nM,小于 12nM,小于 11nM,小于 10nM,小于 9nM,小于 8nM,小于 7nM,小于 6nM,小于 5nM,小于 4nM,小于 3nM,小于 2nM 或小于 1nM。通过本发明的方法产生的 SPI

可以具有下列 K_i 小于 15nM, 小于 10nM, 小于 5nM, 小于 1nM, 小于 750pM, 小于 500pM, 小于 400pM, 小于 300pM, 小于 250pM, 小于 200pM, 小于 150pM, 小于 100pM, 小于 50pM, 小于 30pM, 小于 25pM, 小于 20pM, 小于 15pM, 小于 10pM, 小于 5pM, 小于 1pM, 或小于 100pM。

[0053] 已经证明: 常规的直接 SPI 通过与靶 SP 的至少活性位点结合而发挥作用, 其中它们可能被靶 SP 切割, 从而与靶 SP 的底物竞争结合, 并竞争性抑制靶 SP。通过这种方式作用的 SPI 的实例是蛭素类似物-1。虽然此类竞争性抑制可以是有效的抑制性机制, 但其具有某些缺点, 尤其是就抑制的短暂性和 SPI 的迅速消除而言。

[0054] 如在生物化学杂志, 2007, 282(40) 29101-29113 (Cho Yeow Koh, Maria Kazimirova, Adama Trimmell, Peter Takac, Milan Labuda, Patricia A. Nuttall, 和 R. Manjunatha Kini) 中所描述, variegins 通过与其它直接 SPI 相同的方式以竞争性抑制剂发挥作用。然而, 在 variegins 被凝血酶切割之后, variegins 的片段被称作 MH22 的片段 (显示为 SEQ ID NO: 3) 仍然保持与凝血酶结合, 并作为凝血酶的非竞争性抑制剂发挥功能。这增加了 variegins 的抑制潜力, 并克服了其它直接 SPI 的一些缺点。在分析了与凝血酶结合的 variegins 的晶体结构之后, 本发明人惊奇地发现: MH22 与凝血酶的活性位点结合。这是不寻常的, 因为非竞争性抑制剂一般结合于与酶活性位点不同的位点。此外, 晶体结构揭示: 负责移位凝血酶的催化三联体的一个或多个残基的 variegins 的组氨酸残基是 MH22 序列的一部分, 因此, 在 variegins 被切割之后, 该 variegins 片段打乱凝血酶的催化三联体, 导致增加的抑制持续时间。

[0055] 因此, 本发明的方法可以产生修饰的 SPI, 在修饰的 SPI 被靶 SP 切割之后, 所述修饰的 SPI 保持与靶 SP 结合。此类修饰的 SPI 显示出增加的抑制持续时间。

[0056] 术语“延长的作用持续时间”意指: 靶 SP 的抑制持续时间相对于使用非修饰的 SPI 时的抑制持续时间增加。在一个方面, 作用持续时间可以增加至少 2 倍。在另一方面, 相对于使用非修饰的 SPI 时的抑制持续时间, 作用持续时间可以增加至少 3 倍, 至少 4 倍, 至少 5 倍, 至少 6 倍, 至少 7 倍, 至少 8 倍, 至少 9 倍或更多。修饰的 SPI 的抑制持续时间可以大于 5 分钟, 大于 10 分钟, 大于 15 分钟, 大于 20 分钟, 大于 25 分钟, 大于 30 分钟, 大于 1 小时, 大于 2 小时, 大于 3 小时, 大于 4 小时, 大于 5 小时, 大于 6 小时, 大于 12 小时, 大于 1 天, 大于 2 天, 大于 3 天或更多。上文已经描述了用于测定靶 SP 的抑制程度的方法。在本发明的一些方面, 上文描述的一个或多个导入的氨基酸残基可以向被靶 SP 切割之后保留在活性位点中的修饰的 SPI 的部分的氨基末端放置。

[0057] “向氨基酸末端”意指: 一个或多个导入的残基在被靶 SP 切割之后的 SPI 的保留部分的氨基末端的 5 个氨基酸之内。在一些方面, 一个或多个导入的残基可以在被靶 SP 切割之后保留在活性位点中的修饰的直接 SPI 的部分的氨基末端的 1 个残基之内、2 个残基之内、3 个残基之内、4 个残基之内或 5 个残基之内。

[0058] 对本领域技术人员明显的是, 为了使一个或多个导入的残基“向被靶 SP 切割之后保留在活性位点中修饰的直接 SPI 的部分的氨基末端”, 一个或多个导入的残基必须在修饰的直接 SPI 的切割位点的 5 个残基之内。

[0059] 在一个方面, 本发明的方法可以包括修饰 SPI 以使其能够被中和的另外的或备选的步骤, 包括: 将离子电荷区域导入 SPI, 其中所述离子电荷区域能够与中和试剂上的相反离子电荷区域相互作用, 从而修饰的 SPI 与中和试剂之间的所产生的离子相互作用中和修

饰的 SPI 抑制活性,从而,修饰的 SPI 不再使靶 SP 的催化三联体中的一个或多个氨基酸残基或所述氨基酸残基的一个或多个原子移位。

[0060] 基于 variegins 的序列和从结合于凝血酶的 variegins 的晶体结构获得的数据,本发明人惊奇地发现 variegins 的抑制活性可以被中和。该中和机理是基于发现了 variegins 的羧基末端上的离子电荷区域与中和试剂上的相反离子电荷区域之间的离子相互作用。variegins 与中和试剂之间的离子相互作用似乎通过打乱 variegins 上的离子电荷区域与凝血酶上的相反离子电荷区域之间的离子相互作用而中和 variegins 的抑制活性。从结合于凝血酶的 variegins 的结构分析认为:凝血酶上的离子电荷区域在外部位点 -I 内。

[0061] 该信息允许对其它 SPI 进行修饰,从而使它们能够被中和。鉴于 SPI 的治疗用途(上文已讨论),能够被中和的修饰的 SPI 将具有重要的治疗益处。“能够被中和”意思是:能够通过加入中和试剂全部或部分解除 SPI 的活性,即,在加入中和试剂之后能够恢复 SP 的活性。在该定义下,可以恢复 10%,20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%,90%,95%,99%或 100%的 SP 活性。换言之,在打乱了修饰的 SPI 与靶 SP 之间的离子相互作用之后,可以保留 90%,80%,70%,60%,50%,40%,30%,20%,10%,5%,1%的 SPI 抑制活性。

[0062] 对本领域技术人员明显的是:由于在结合的与未结合的抑制剂之间建立的内在平衡,多数通过与其靶标结合而发挥作用的抑制剂(包括但不限于竞争性抑制剂)的作用可以在一定程度上被中和。在加入某些物质之后,该平衡位置被改变;所述物质在本文中被称作“中和试剂”,其使所述平衡偏向有利于未结合的抑制剂;因此,解除抑制剂的抑制效应。然而,在“非可中和”抑制剂的情况下,该平衡严重偏向结合的抑制剂,中和试剂的加入不扰乱平衡。图 8 显示了 variegins 与凝血酶结合的平衡示意图。该示意图仅以举例方式提供。

[0063] 在本发明的上下文中,术语“中和”意指仅涉及通过加入中和试剂而引起的中和,其扰乱平衡;不指作为内在平衡的副产物的内在中和。

[0064] 中和试剂可以通过拥有与导入到修饰的 SPI 上的离子电和区域相反的离子电荷区域而发挥中和修饰的 SPI 的抑制活性的功能。修饰的 SPI 与中和试剂之间的离子相互作用的形成可能导致修饰的 SPI 上的离子电荷区域与靶 SP 上的相反离子电荷区域之间的相互作用被打乱。靶 SP 上的离子电荷区域可以在外部位点之一以内。在另一个方面,离子电荷区域可以在外部位点 -I 以内。在本发明的一个方面,中和试剂上的离子电荷区域可以是阳离子电荷区域。因此,在本发明的该方面,通过本发明的方法导入到 SPI 中的离子电荷区域可以是阴离子电荷区域。在本发明的另一方面,靶 SP 上的离子电荷区域可以是阳离子电荷区域。

[0065] 导入到 SPI 中的离子电荷区域可以导向 SPI 的羧基末端。“向羧基末端”意指导入的离子电荷区域位于修饰的 SPI 的羧基末端的 10 个氨基酸之内。导入的离子电荷区域可以在修饰的 SPI 的羧基末端的 1 个残基之内、2 个残基之内、3 个残基之内、4 个残基之内、5 个残基之内、6 个残基之内、7 个残基之内、8 个残基之内、9 个残基之内或 10 个残基之内。

[0066] 中和试剂可以是阳离子物质。此类阳离子物质可以与 SP 竞争与靶 SPI 上的阴离子电荷区域的结合,引起修饰的 SPI 的移位,和靶 SP 的抑制的丧失。中和试剂可以是阳离子肽,例如硫酸精蛋白。

[0067] 导入到 SPI 中的离子电荷区域可以包括一个或多个酸性残基。一个或多个酸性残基可以包括 1、2、3、4、5 或更多个酸性残基。术语“酸性残基”可以包括天冬氨酸和谷氨酸。

一个或多个酸性残基可以包括谷氨酸残基和 / 或天冬氨酸残基。

[0068] 可以导入的离子电荷区域的具体实例包括两个谷氨酸氨基酸残基和两个天冬氨酸氨基酸残基。在另一个具体实例中,可以导入的离子电荷区域包括序列 glu-glu-X-X-asn-asn,其中 X 是任意氨基酸残基。在另一个实例中,可以导入的离子电荷区域包括序列 glu-glu-tyr-lys-asn-asn。

[0069] 一般内容

[0070] 现在将描述本发明的一些一般性方面。该部分中包括的特征和方法适用于上文描述的本发明的任何方法。

[0071] 如在前面的部分中所描述,本发明的方法可以包括将一个或多个残基导入 SPI。在一个方面,此类导入的残基可以通过插入导入。在另一个方面,可以通过置换导入残基。

[0072] 置换或插入的方法对于本领域技术人员将是明显的。举例而言,但不限于此:这些可以包括定点诱变、PCR 诱变、转位子诱变、定向诱变、插入诱变、靶向诱变和化学蛋白合成 (Sambrook 等人 (2000))。

[0073] 在本发明的一些方面,修饰 SPI 的方法可以包括一个或多个另外的步骤。在一些实施方式中,一个或多个另外的步骤可以是最初的另外步骤,意思是这些步骤发生在修饰方法的其它步骤之前。

[0074] 在一个方面,本发明的方法可以包括下列的另外步骤:分析 SPI 的结构以确定要对 SPI 进行的修饰。分析可以包括分析 SPI 的氨基酸序列和 / 或 SPI 的结构的计算机模拟。另外或备选地,方法可以包括分析 SP 的结构或与 SP 结合的 SPI 的结构。此类结构可以是晶体结构、红外谱、圆形二色性数据、紫外谱、NMR 光谱的形式,计算性方法包括但不限于:分子力学、分子动力学和对接、或氢 / 氘交换和质谱法。

[0075] 分析可以包括确定负责 SP 与 SPI 之间的相互作用 (该相互作用将通过修饰 SPI 的方法被改变) 的 SPI 的区域。例如,修饰 SPI 以增强如上文描述的靶 SP 的抑制的方法可以包括鉴定 SPI 中的与靶 SP 的催化三联体相互作用的残基的最初步骤。然后,可以修饰与催化三联体相互作用的氨基酸残基以移位催化三联体的一个或多个残基或其一个或多个原子,例如,通过在该位置导入 MHKT 序列。

[0076] 本发明可以包括下列的另外步骤:分析靶 SP 的结构以确定要对 SPI 进行的修饰。分析可以包括确定负责靶 SP 与 SPI 之间的相互作用 (该相互作用将通过修饰 SPI 的方法被改变) 的靶 SP 的区域和 / 或残基。分析可以包括 SP 的结构分析,其可以是晶体结构、红外谱、圆形二色性数据、紫外谱、NMR 光谱的形式,或来自计算性方法的数据。上述分析可以包括将 SPI 的结构与另一个结构和 / 或功能在之前已经被分析了 SPI 的结构进行比较。此类分析可以在关于待修饰的 SPI 与另一 SP 所产生的任何数据上进行。特别地,此类数据可以源自晶体结构、红外谱、圆形二色性数据或紫外谱和 NMR 光谱或来自计算性方法的数据。

[0077] 在本发明的另一个方面,结构和 / 或功能在之前已经被分析了 SPI 可以是凝血酶抑制剂。在本发明的另一个方面,结构和 / 或功能在之前已经被分析了 SPI 可以是 variegins。

[0078] 在本发明的一个方面,要通过本发明的方法修饰的 SPI 可以是凝血酶抑制剂。根据本发明的另一个方面,要通过本发明的方法修饰的 SPI 可以选自蛭素类似物 (SEQ ID NO: 14)、Kunitz/BPTI- 型抑制剂 (例如,牛胰腺胰蛋白酶抑制剂,显示于 SEQ ID NO: 776)、蛭

素-相关凝血酶抑制剂、serpins、肝素辅因子、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶样 serpins、kazal 型直接抑制剂和 kunitz 型/STI(大豆胰蛋白酶抑制剂)抑制剂。在另一个方面,要通过本发明的方法修饰的 SPI 可以是 SEQ ID NO:17-153 的任一项。

[0079] 修饰的 SPI

[0080] 本发明还包括通过本发明的方法可获得或获得的修饰的 SPI。

[0081] 在另一个方面,本发明涉及通过任何方法获得的修饰的 SPI。例如,通过本发明的方法可获得的修饰的 SPI 也可以通过本领域已知的任何方法来产生。用于产生本文描述的修饰的 SPI 的示例性技术包括化学肽合成、固相或溶液相肽合成、从编码修饰的 SPI 的核酸分子进行体外翻译,或基于细胞的生产方法,其利用原核或真核重组表达系统。在示例性实施方式中,修饰的 SPI 是包含如 SEQ ID NO:158-770 所示的任意序列的多肽。此类修饰的 SPI 成分可用于本发明的方法,包括抑制 SP 的方法,如下文所描述。在本发明的一个方面,通过本发明的方法可获得或获得的修饰的 SPI 可以是修饰的凝血酶抑制剂。

[0082] 在本发明的一个方面,通过本发明的方法可获得或获得的修饰的 SPI 可以是蛭素类似物 (SEQ ID NO:14)、Kunitz/BPTI-型抑制剂(例如,牛胰腺胰蛋白酶抑制剂,显示于 SEQ ID NO:776)、蛭素-相关凝血酶抑制剂、serpins、肝素辅因子、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶样 serpins、kazal 型直接抑制剂和 kunitz 型/STI(大豆胰蛋白酶抑制剂)抑制剂的修饰的形式。在另一个方面,通过本发明的方法修饰的 SPI 可以是 SEQ ID NO:17-153 的任一项。

[0083] 通过本发明的方法可获得或获得的修饰的蛭素类似物的修饰的形式可以具有下列共有序列:

[0084] (N-末端肽)- X_1 -H- X_2 -(G)_n-(外部位点 I 结合肽)(SEQ ID NO:771)。

[0085] 在一个方面,N-末端肽可以包括序列苯丙氨酸、苯丙氨酸-脯氨酸、苯丙氨酸-脯氨酸-精氨酸,或苯丙氨酸-脯氨酸,赖氨酸。

[0086] 在另一个方面,氨基末端苯丙氨酸残基可以是修饰的苯丙氨酸残基。在一个实例中,该修饰的残基可以是_D-苯丙氨酸残基。

[0087] 在一个方面, X_1 可以是任意氨基酸。在另一个方面, X_1 可以是甲硫氨酸残基。

[0088] 在一个方面, X_2 可以是任意氨基酸。在另一个方面, X_2 可以是赖氨酸或精氨酸残基。

[0089] 在一个方面,n 可以是一个或多个甘氨酸氨基酸残基。在另一个方面,n 可以是 2、3、4、5 或更多个甘氨酸氨基酸残基。

[0090] 在一个方面,修饰的 SPI 可以包括一个或多个硫酸化氨基酸残基。在另一个方面, SPI 可以包括一个或多个硫酸化酪氨酸残基。

[0091] 在一个方面,外部位点 I 结合肽可以包括下列序列之一:

[0092] FEEIPEEYL (SEQ ID NO:772);

[0093] YEPIPEEA (SEQ ID NO:773);

[0094] NGDFEEIPEEYL (SEQ ID NO:774);或

[0095] APPFDFAIPEEYL (SEQ ID NO:775)。

[0096] 外部位点 I 结合肽还可以包括含有一个或多个酸性残基的离子电荷区域。所述一个或多个酸性残基可以包括 1、2、3、4、5 或更多个酸性残基。术语“酸性残基”可以包括天冬氨酸和谷氨酸。一个或多个酸性残基可以包括谷氨酰胺残基和/或天冬氨酸残基。离子

电荷区域可以包括两个谷氨酸氨基酸残基和两个天冬氨酸氨基酸残基。离子电荷区域可以包括序列 glu-glu-X-X-asn-asn, 其中 X 是任意氨基酸残基。在另一个实例中, 离子电荷区域可以包括序列 glu-glu-tyr-lys-asn-asn。

[0097] 在一个方面, 修饰的 SPI 可以包括选自 SEQ ID NO:158-770 的序列。在另一个方面, 修饰的 SPI 由 SEQ ID NO:158-770 的一个或多个序列组成。

[0098] 本发明的修饰的 SPI 可以通过化学肽合成、通过重组肽合成或使用宿主细胞细胞来产生。

[0099] 本发明还包括根据本发明的修饰的 SPI 的功能等同物, 其保留抑制 SP 的增强的能力, 如上文所述。在一个方面, 术语“功能等同物”意在包括与根据本发明的方法产生的修饰的 SPI 具有至少 50% 序列同一性的肽分子。在另一个方面, 功能等同物可以与根据本发明的方法产生的修饰的 SPI 具有 60%, 70%, 85%, 90%, 95%, 98%, 99% 或更高的序列同一性。此类功能等同物保留抑制靶 SP 的增强的能力, 如上文所述。

[0100] 术语“功能等同物”还包括: 与本发明的修饰的 SPI 相比, 包含一个或多个保守性置换的任意多肽。在一个方面, 多肽包含一个或多个保守性置换。在另一个方面, 与本发明的修饰的 SPI 相比, 多肽包含两个或更多个、三个或更多个、四个或更多个、或五个或更多个保守性置换。保守性置换是这样的氨基酸置换: 其中被置换的氨基酸的性质相对于在该位置通常存在的氨基酸而言不发生实质上的变化。保守性置换包括酸性氨基酸置换为另一酸性氨基酸, 碱性氨基酸置换为另一碱性氨基酸, 不带电荷的氨基酸置换为另一不带电荷的氨基酸, 非极性氨基酸置换为另一非极性氨基酸, 小氨基酸置换为另一小氨基酸, 或大氨基酸置换为另一大氨基酸。酸性氨基酸是天冬氨酸和谷氨酸。碱性氨基酸是精氨酸、组氨酸和赖氨酸。不带电荷的氨基酸是天冬酰胺、谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸。非极性侧链是丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸、甘氨酸和半胱氨酸。在非极性氨基酸的类别内, 丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和甘氨酸被认为是小氨基酸, 脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸和色氨酸被认为是大氨基酸。

[0101] 在另一个方面, 本发明包括通过本发明的方法产生的 SPI 的片段。在另一个方面, 片段可以包括 2 个或更多个氨基酸。在另一个方面, 片段可以包括 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45 或 50 个氨基酸。在另一个方面, 片段可以由 2 个或更多个氨基酸组成。在另一个方面, 片段可以由 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 1, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30, 35, 40, 45 或 50 个氨基酸组成。此类片段保留抑制靶 SP 的增强的能力, 如上文所述。

[0102] 在另一个方面, 功能等同物可以是融合蛋白, 其通过例如将编码本发明的修饰的 SPI 或其变体或片段的多核苷酸在框内克隆于异源蛋白序列的编码序列而获得。如本文使用的术语“异源的”意指除了修饰的 SPI 或其功能等同物之外的任意多肽。构成融合蛋白的异源序列 (在 N-末端或在 C-末端) 的实例是下列: 与膜结合的蛋白的细胞外结构域、人免疫球蛋白恒定区 (Fc 区)、多聚体结构域、细胞外蛋白的结构域、信号序列、输出序列, 或允许通过亲和色谱纯化的序列。很多这些异源序列可通过商业途径获得 (在表达质粒中), 因为这些序列通常包括在融合蛋白中以提供另外的性质而不显著破坏融合于它们的蛋白的特定生物活性 (Terpe (2003))。此类另外的性质的实例是: 体液中的持续较长的半衰期、细胞外定位, 或由于标签例如组氨酸或 HA 标签而允许更容易地纯化程序。

[0103] 异源蛋白也可以是标记物结构域。在一个方面,标记物结构域可以是荧光标签、允许通过亲和结合纯化的表位标签、允许组织化学或荧光标记的酶标签,或放射性化学标签。在另一实施方式中,标记物结构域可以是放射性化学标签。此类融合蛋白可用作诊断工具。

[0104] 用于产生融合蛋白的方法是本领域中的标准技术,是本领域技术人员已知的。例如,多数一般性的分子生物学、微生物、重组 DNA 技术和免疫技术可以见于 Sambrook 等人(2000)。一般地,融合蛋白可以最方便地从核酸分子重组产生,在所述核酸分子中两个核酸序列在框内融合在一起。这些融合蛋白将由含有所讨论的融合蛋白的相关编码序列的核酸分子编码。

[0105] 在一个方面,根据本发明的修饰的 SP 的功能等同物可以包括:包含适合移位靶 SP 的催化三联体的残基之一的部分的任意分子。在一个方面,该分子可以是蛋白分子,适合移位催化三联体的残基之一的部分可以是氨基酸残基。对本领域技术人员明显的是,该定义不包括单独的任何残基,因为残基将需要另外的残基的存在以使适合移位靶 SP 的催化三联体的残基之一的残基定位于适合于移位催化三联体的残基之一的方向和位置。在一个方面,功能等同物可以包括蛋白分子内的组氨酸残基,其以适合移位靶 SP 的催化三联体的残基之一的方式定位和定向。本发明还包括如上所述的修饰的 SPI 的合成类似物。

[0106] 通过本发明的方法产生的修饰的 SPI 的片段或功能等同物能够作为 SPI 发挥作用。“能够作为 SPI 发挥作用”意思是该片段或功能等同物能够抑制 SP 的 SP 活性。在另一个方面,片段或功能等同物能够抑制靶 SP 的 SP 活性。

[0107] 对本领域技术人员明显的是,可以使用多种测定法来测定片段或功能等同物是否能够作为 SPI 发挥作用。举例而言,但不限于此,此类测定法可以是 SP 胺裂解测定,如上文所述,其中检测在存在 S2238 的情况下,将靶 SP 与修饰的 SPI 一起温育之后,对硝基苯胺的形成。当在此类 SP 胺裂解测定法中测定时,本发明的修饰的 SPI 可以具有下列 IC_{50} : 小于 30nM, 小于 25nM, 小于 20nM, 小于 15nM, 小于 14nM, 小于 13nM, 小于 12nM, 小于 11nM, 小于 10nM, 小于 9nM, 小于 8nM, 小于 7nM, 小于 6nM, 小于 5nM, 小于 4nM, 小于 3nM, 小于 2nM 或小于 1nM。当在此类 SP 胺裂解测定法中测定时,通过本发明的方法产生的 SPI 可以具有下列 K_i : 小于 15nM, 小于 10nM, 小于 5nM, 小于 1nM, 小于 750pM, 小于 500pM, 小于 400pM, 小于 300pM, 小于 250pM, 小于 200pM, 小于 150pM, 小于 100pM, 小于 50pM, 小于 30pM, 小于 25pM, 小于 20pM, 小于 15pM, 小于 10pM, 小于 5pM, 小于 1pM 或小于 100pM。

[0108] 在一个方面,本发明包括编码根据本发明的方法产生的修饰的 SPI 的核酸分子。在另一个方面,本发明包括与编码根据本发明的方法产生的修饰的 SPI 的核酸分子具有至少 50% 序列同一性的核酸分子。在另一个方面,本发明包括与编码根据本发明的方法产生的修饰的 SPI 的核酸分子具有至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 98%、至少 99% 或更高的序列同一性的核酸分子。本发明还包括编码根据本发明的方法产生的修饰的 SPI 的核酸分子的片段。在一个方面,所述片段可以包括 10 个或更多个核苷酸。在另一个方面,所述片段可以包括 12 个或更多个、14 个或更多个、16 个或更多个、18 个或更多个、20 个或更多个、25 个或更多个、30 个或更多个、40 个或更多个、50 个或更多个、60 个或更多个、70 个或更多个、80 个或更多个、90 个或更多个,或 100 个或更多个核苷酸。根据本发明的核酸分子可以是任意形式,包括双链和单链 RNA、DNA 和 cDNA。

[0109] 在另一个方面,本发明包括在高度严格杂交条件下与根据本发明的核酸分子杂

交的反义核酸分子。高度严格杂交条件在本文中定义为：在 42℃ 在包含 50% 甲酰胺、5XSSC(150mM NaCl, 15mM 柠檬酸三钠)、50mM 磷酸钠 (pH7.6)、5X Denhardt's 溶液、10% 硫酸葡聚糖和 20 μg/ml 变性的、剪切的鲑鱼精 DNA 的溶液中过夜温育, 然后在 0.1X SSC 中在大约 65℃ 洗涤滤液。

[0110] 本发明还包括含有本发明的核酸分子的克隆和表达载体。此类表达载体可以包含与本发明的核酸分子在框内连接的适当的转录和翻译控制序列, 包括但不限于: 增强子元件、启动子-操纵子区域、终止序列、mRNA 稳定性序列、起始和终止密码子或核糖体结合位点。另外, 使本发明的修饰的 SPI 从某些宿主中分泌出来可能是方便的。因此, 此类载体的另外的成分可以包括编码分泌、信号和处理序列的核酸序列。

[0111] 根据本发明的载体包括质粒和病毒(包括噬菌体和真核病毒), 以及其它的线性或环形 DNA 载体, 例如利用可转位元件或同源重组技术的那些。很多此类载体和表达系统对于本领域技术人员将是明显的。特别适宜的病毒载体包括基于杆状病毒、腺病毒和牛痘病毒的载体。

[0112] 用于重组表达的适宜的宿主包括通常使用的原核物种, 例如大肠杆菌, 或者可以被操作以表达高水平的重组蛋白并且可以容易地大量生长的真核酵母。在体外生长的哺乳动物细胞系也是适宜的, 尤其是当使用病毒驱动的表达系统时。另一个适宜的表达系统是杆状病毒表达系统, 其包括使用昆虫细胞作为宿主。表达系统也可以包括在其基因组中导入了 DNA 的宿主细胞。蛋白或蛋白片段也可以在体内表达, 例如在昆虫幼虫或哺乳动物组织中。可以使用多种技术将载体导入原核或真核细胞中。适宜的转化或转染技术在文献中有完备的描述 (Sambrook 等人 (2000))。在真核细胞中, 表达系统可以是短暂的(例如, 游离体)或永久的(染色体整合), 视系统的需要而定。

[0113] 治疗方法

[0114] 本发明还包括根据本发明可获得的或获得的修饰的 SPI 在治疗中的用途。

[0115] 也可以使用通过任何方法获得的修饰的 SPI 来执行用途和方法。

[0116] 本发明包括抑制 SP 的方法, 包括向受试者施用本发明的分子。

[0117] “本发明的分子”意思是根据本发明的方法可获得的或获得的修饰的 SPI 分子, 编码根据本发明的方法可获得的或获得的修饰的 SPI 的核酸, 包含编码通过本发明的方法可获得的或获得的修饰的 SPI 的核酸的载体, 和包含含有编码通过本发明的方法可获得的或获得的修饰的 SPI 的核酸的载体的宿主细胞。“本发明的分子”还包括通过本发明的方法可获得的、但通过任何方法产生的修饰的 SPI。因此, 本发明的修饰的 SPI 分子可以使用本领域已知的任何方法产生, 例如, 化学肽合成、固相或溶液相肽合成、从编码修饰的 SPI 的核酸分子进行体外翻译, 或基于细胞的生产方法, 其利用原核或真核重组表达系统。在示例性实施方式中, “本发明的分子”包括含有如 SEQ ID NO: 158-770 所示的任意序列的多肽。此类修饰的 SPI 分子可用于本发明的方法, 包括本文所述的任意治疗方法。

[0118] 受试者一般是动物。术语“动物”包括分类为动物界的成员的任意生物。一般地, 动物是哺乳动物, 例如人、母牛、绵羊、猪、骆驼、马、狗、猫、猴子、小鼠、大鼠、仓鼠和兔子。

[0119] 方法可以包括施用治疗有效量的本发明的分子。术语“治疗有效量”是指治疗或缓解靶疾病或病况所需的化合物的量。如本文使用的术语“预防有效量”是指预防靶疾病或病况所需的化合物的量。精确剂量一般将取决于给药时受试者的状态。当确定剂量时可以考

虑的因素包括：受试者中的疾病状态的严重性、受试者的一般健康、年龄、体重、性别、膳食、给药时间和频率、药物组合、反应敏感性和受试者对于治疗的耐受或应答。精确的量可以通过常规实验确定，但最终可以根据临床医生或兽医的判断。一般地，有效剂量将是 0.01mg/kg（药物质量比受试者的质量）至 50mg/kg，优选 0.05mg/kg 至 10mg/kg。本发明的分子可以联合药学上可接受的载体以药物组合物的形式提供。

[0120] 如本文使用的术语“药学上可接受的载体”包括基因、多肽、抗体、脂质体、多糖、聚乳酸、聚乙醇酸和无活性的病毒颗粒或事实上任何其它试剂，只要赋形剂本身不诱导毒性效应或引起对接受药物组合物的个体有害的抗体的产生。药学上可接受的载体可以另外包括：液体，例如水、盐水、甘油、乙醇，或辅助性物质，例如润湿剂或乳化剂，pH 缓冲物质等。赋形剂能够使药物组合物配制为片剂、药丸、糖衣丸、胶囊、液体、凝胶、糖浆、浆料、悬浮液以辅助受试者摄取之。关于药学上可接受的载体的详细讨论可以见 Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Pub. Co., N. J. 1991)。

[0121] 在一个方面，本发明提供了涉及通过本发明的方法可获得或获得的修饰的凝血酶抑制剂的疗法。

[0122] 本发明包括治疗患有凝血病的受试者或预防患者患上凝血病的方法，包括施用通过本发明的方法可获得或获得的修饰的凝血酶抑制剂。

[0123] 本发明还包括用于治疗患有凝血病的受试者或预防患者产生凝血病的通过本发明的方法可获得或获得的修饰的凝血酶抑制剂。

[0124] “凝血病”意指血液凝固的任意病症。

[0125] 当需要抗凝时的处理包括，为了诊断或治疗原因的涉及经皮、透过血管或透过器官的导管插入的程序。此类程序可以包括但不限于：冠状动脉血管成形术；血管内支架程序；通过动脉或静脉导管直接施用血栓溶解剂，例如在中风或冠状动脉血栓症之后；心律转变法；心脏起搏器导线的放置；血管内和心脏内监控压力、气体饱和或其它诊断参数；涉及经皮或透过器官的导管插入的放射学和其它程序；以确保长期、留置的、血管内胃肠外营养导管的效能；以确保长期或短期血管接入端口的效能。

[0126] 本发明的方法的另外的体内应用包括血栓栓塞事件之后的紧急抗凝，所述血栓栓塞事件包括但不限于：急性心肌梗塞；血栓形成性中风；深度静脉血栓；血栓性静脉炎；肺栓塞；栓和微栓发作，其来源可以是心脏、动脉粥样硬化斑、瓣膜或人造血管或未知的来源；弥散性血管内凝血 (DIC)。

[0127] 本发明的方法也可用于预防在器官灌注程序例如心肺分流术 (cardiopulmonary bypass)、肝脏分流术 (hepatic bypass) 中以及作为器官移植的附属来预防凝固。由于心肺分流术而促成的大量血栓形成反应不能通过间接凝血酶抑制剂例如肝素及其类似物完全拮抗 (Edmunds & Colman (2006))。

[0128] 另外的需要抗凝的情况包括：血液透析、血液过滤或血浆交换程序。在涉及血管的交叉夹紧的手术程序时也可能需要抗凝，以使末梢循环中的凝固风险最小化。此类程序可以包括但不限于：动脉内膜切除术、人造血管的插入、主动脉和其它动脉瘤的修复。

[0129] 另外，方法和根据本发明可获得或获得的修饰的凝血酶抑制剂可用于在肝素抗性受试者中诱导抗凝。

[0130] 方法和根据本发明的方法可获得或获得的修饰的凝血酶抑制剂也可用于治疗或

预防肝素诱导的血小板减少症。可以向患有或具有换 HIT 以及具有或不具有活性血栓的受试者施以此类治疗,并且可以施用直至血小板计数恢复至正常范围内或直至不再有血栓风险 (Girolami & Girolami (2006), Lewis & Hursting (2007))。

[0131] 本发明的分子可以通过任意合适途径施用。优选的施用途径包括静脉内、肌肉内或皮下注射,口服施用,舌下施用和经皮施用。可以通过静脉内输注持续给予治疗或作为单一或重复的推注射进行。本发明的分子可以单独向受试者施用,或者可以与其它试剂、药物或激素组合施用。例如,本发明的分子可以与口服抗凝剂例如香豆素 (coumarin) 衍生物一起施用,直至受试者变得稳定,然后可以单独以香豆素衍生物治疗该受试者。

[0132] 本发明还提供了:通过本发明的方法产生的修饰的 SPI 可用于诊断。由于这些方法涉及通过与靶 SP 的相互作用特异性抑制 SP 活性,所以它们可用于检测靶 SP 的存在,从而诊断由 SP 的累积而引起的病况,例如纤维蛋白或血小板血栓,其由凝血酶的累积而引起。因此,本发明提供了诊断由 SP 累积引起的病况的方法,该方法是通过向受试者或分离自受试者的组织施用如上文描述的本发明的修饰的 SPI,并检测所述 SPI 或其片段或功能等同物的存在,其中所述修饰的 SPI 或其片段或功能等同物与靶 SP 的结合的检测指示所述疾病或病况。修饰的 SPI 或功能等同物可以是包含标记物结构域的融合蛋白的形式,如上文更详细地所描述,以促进检测。在一个方面,标记物结构域可以是放射化学标签,从而可以使用已知的成像方法进行检测。

[0133] 根据本发明的另一个方面,本发明的体内方法可用于治疗恶性疾病或与恶性疾病相关的病况。

[0134] 数十年以来已经认识到,恶性疾病经常与血栓栓塞发作的增加的倾向相关,其是由 SP 凝血酶的增加的水平引起的。例如,Trousseau 综合征的特征在于短暂的血栓性静脉炎和潜在的恶性质,凝血酶抑制剂例如肝素已经用于其管理 (Varki (2007))。更近期以来,已经显而易见的是,促凝血因子包括凝血酶的产生可能是恶性疾病的某些方面的诱因而非结果 (Nierodzik & Karparkin (2006))。有很多这样的情况:其中需要抑制 SP,然后中和此类抑制。举例而言,但不限于此,此类抑制和中和在手术中可能是有利的,其中,当手术正在进行时,需要靶 SP 抑制以防止凝血酶诱导的凝固;在完成手术之后,撤销抑制是有利的,以允许伤口愈合。

[0135] 当 SPI 是凝血酶抑制剂时,可以通过施用阳离子肽例如硫酸精蛋白来中和凝血酶活性。因此,涉及如本文描述凝血酶抑制的任何治疗方法可以描述向受试者施用一定量的阳离子肽以引起凝血酶抑制的中和的另外的步骤。在一个方面,所施用的阳离子肽的量可以是 0.01mg/ml 至 1mg/ml。在另一个方面,所施用的阳离子肽的量可以是 0.01mg/ml 或更多,0.02mg/ml 或更多,0.03mg/ml 或更多,0.04mg/ml 或更多,0.05mg/ml 或更多,0.06mg/ml 或更多,0.07mg/ml 或更多,0.08mg/ml 或更多,0.09mg/ml 或更多,0.1mg/ml 或更多,0.11mg/ml 或更多,0.12mg/ml 或更多,0.13mg/ml 或更多,0.14mg/ml 或更多,0.15mg/ml 或更多,0.16mg/ml 或更多,0.18mg/ml 或更多,0.19mg/ml 或更多,0.2mg/ml 或更多,0.3mg/ml 或更多,0.4mg/ml 或更多,0.5mg/ml 或更多,或 1mg/ml。

[0136] 现在将通过举例方式更详细地描述本发明的各个方面和实施方式。将认识到,可以不脱离本发明的范围进行细节的修饰。

附图说明

[0137] 图 1 显示了典型的 SP 的催化反应图解。多肽底物与 SP 结合,从而裂解键被插入到酶的活性位点,并且其羰基碳位于 SP 的亲核丝氨酸附近。丝氨酸 -OH 攻击羰基碳,并且 SP 的组氨酸的氮接受来自丝氨酸的 -OH 的氢,从而产生四面体中间体。接下来,肽键中的氮-碳断裂,产生酰基酶中间体,水加入其中,产生另一种四面体中间体。在最后的反应中,肽的 C-末端被射出,SP 恢复至其原始状态。

[0138] 图 2 显示了凝血酶-s-variegins 复合物的结构,与其它凝血酶抑制剂结构相对比。

[0139] (A) 凝血酶-s-variegins 复合物的结构。凝血酶 A 链骨架显示为浅蓝色带状物,B 链显示为白色带状物,s-variegins 骨架和侧链原子显示为粉色的棍。

[0140] (B) 凝血酶-蛭素类似物-1 复合物的结构 (PDB :2HGT)。蛭素类似物-1 显示为红色的棍。

[0141] (C) 凝血酶-蛭素类似物-3 复合物的结构 (PDB :1ABI)。蛭素类似物-3 显示为黄色的棍。

[0142] (D) 凝血酶-蛭素原 (hirugen) 复合物的结构 (PDB :1HGT)。蛭素原显示为绿色的棍。

[0143] (E) 凝血酶-PPACK 复合物的结构 (PDB :1PPB)。PPACK 显示为橙色的棍。

[0144] (F) 野生型、不含抑制剂、不含 Na⁺ 的凝血酶 (PDB :2AFQ)。结构代表“慢”形式的凝血酶,并且无抑制剂。

[0145] 图 3 显示了在 37°C 和 24°C 凝血酶对 s-variegins 的切割的分析。通过积分 RP-HPLC 分析中的峰下面积而计算:未切割的 s-variegins 的相对百分比 (■)、质量为 1045 的切割产物的相对百分比 (代表 N-末端片段 SDQGDVAEPK ;SEQ ID NO :2) (□) 和质量为 2582 的切割产物的相对百分比 (代表 C-末端片段 MHKTAPPDFEAIPEEYLDDES ;MH22 ;SEQ ID NO :3) (■)。切割在 37°C 比在室温 (24°C) 进行得快 (n = 2,误差条代表 S. D.)。

[0146] (A) 通过在 37°C 温育 s-variegins 与凝血酶而获得的结果。完成切割仅需要 180 分钟。

[0147] (B) 通过在 24°C 温育 s-variegins 与凝血酶而获得的结果。完成~90%的切割需要 360 分钟。

[0148] 图 4 显示:被凝血酶切割后 s-variegins 和 EP25 保留了它们的活性。

[0149] (A) S-variegins 与凝血酶 (3.33nM) 在室温温育 24 小时,在多个时间点测定抑制凝血酶在 100 μM S2238 上的胺裂解活性的能力 (n = 3,误差条代表 S. D.)。

[0150] (B) 以 EP25 代替 s-variegins 进行类型的实验 (n = 3,误差条代表 S. D.)。

[0151] 图 5 显示:MH22、s-variegins 和蛭素类似物-1 抑制人血浆凝血酶。使用活性位点定向底物 S2238 (100 μM) 测定 MH22、s-variegins 和蛭素类似物-1 抑制源自人血浆的凝血酶的胺裂解活性的能力。当它们以相似的摩尔浓度与凝血酶一起存在时,MH22 (○)、s-variegins (▲) 和蛭素类似物-1 (■) 抑制凝血酶 (1.65nM) 的剂量应答曲线均显示出抑制。

[0152] 用于 MH22 (■) 和 s-variegins 的浓度分别是 0.03nM,0.1nM,0.3nM,1nM,3nM,10nM,30nM,100nM,300nM 和 1000nM。抑制的 IC₅₀ 分别是 11.46 ± 0.71nM 和 8.25 ± 0.45nM (n = 3,误差条代表 S. D.)。

[0153] 用于蛭素类似物 -1 (▲) 的浓度是 0.3nM, 1nM, 3nM, 10nM, 30nM, 100nM, 300nM, 1000nM, 3000nM 和 10000nM。抑制的 IC_{50} 是 $72.6 \pm 3.9nM$ ($n = 3$ 误差条代表 S. D.)。

[0154] 图 6 显示了 MH22 的表观抑制常数 (K_i')。由于 MH22 作为紧密结合抑制剂发挥其作用, 所以使用不同浓度的 S2238 作为底物, 检测了不同浓度 (0.195nM, 0.391nM, 0.781nM, 1.56nM, 3.12nM, 6.25nM, 12.5nM, 25nM, 50nM, 100nM) 的 MH22 对于凝血酶 (1.65nM) 的抑制。加入凝血酶时反应起始。图中显示了以 100 μM S2238 进行的实验。将获得的数据拟合入等式以得出表观抑制常数 (K_i') (平均值 $\pm$ S. D.) 是 $14.31 \pm 0.26nM$ ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0155] 图 7 显示了 MH22 的抑制常数 K_i 。使用 6 种不同浓度的底物 S2238 (12.5 μM , 25 μM , 50 μM , 75 μM , 100 μM 和 150 μM) 测定 MH22 的表观抑制常数 (K_i')。 K_i 针对底物浓度的曲线一直保持不变, 这表明 MH22 非竞争性地 ($K_i' = (S + K_m) / [(K_m / K_i) + (S / \alpha K_i)]$ 并且 $K_i' = K_i$) 抑制凝血酶在 S2238 上的胺裂解活性。通过线性回归拟合 K_i' 值, 得出抑制常数 K_i 是 $14.11 \pm 0.29nM$ (对于每个 S2238 浓度, $n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0156] 图 8 显示了 variegins 抑制凝血酶的平衡方案。在不存在 variegins 的情况下, S2238 结合凝血酶 (K_s 是凝血酶 -S2238 解离的平衡常数, 显示为蓝色箭头), 并且被凝血酶水解以释放有色产物 pNA (K_p 是形成 pNA 的正向速率常数, 绿色箭头)。

[0157] 在存在 variegins 的情况下, 凝血酶结合 variegins (K_{i-v} 是 variegins 的抑制常数, 显示为棕色箭头), 因此, S2238 的水解被完全抑制。结合之后, 凝血酶将 variegins 切割为 MH22 (k_c 是切割的正向速率常数, 显示为紫色箭头)。

[0158] MH22 保持与凝血酶结合, 作为凝血酶的经典的非竞争性抑制剂 (K_{i-m} 是 MH22 的抑制常数)。MH22 以相同的亲和性与游离的凝血酶或结合于 S2238 的凝血酶结合, $\alpha = 1$, 因此 $K_{i-m} = \alpha K_{i-m}$ (显示为红色箭头)。类似地, $K_s = \alpha K_s$, S2238 与凝血酶的结合不受 MH22 的影响。

[0159] 图 9 显示了结合于 s-variegins 和结合于蛭素原的凝血酶的结构中的催化三联体。

[0160] (A) 当在凝血酶-蛭素原结构中未被占据时 (绿色), 凝血酶的催化三联体 $^1\text{His}57$ 、 $^1\text{Asp}102$ 和 $^1\text{Ser}195$ 具有完整的电荷中继氢结合系统。在凝血酶-s-variegins 结构中 (粉色), $^1\text{Ser}195$ O γ 被移位 1.10 Å (青色箭头)。 $^1\text{His}57$ N ϵ 与 $^1\text{Ser}195$ O γ 之间的距离是 3.77 Å, 因此不形成氢键, 电荷中继系统被破坏。

[0161] (B) $^1\text{Ser}195$ O γ 的移位是由于 s-variegins (显示为灰色) 与凝血酶的催化三联体之间的相互作用。 $^v\text{His}12$ 骨架 N (供体) 通过氢键 (2.77 Å) 啮合 $^1\text{Ser}195$ 的 O γ (受体), 而 $^v\text{His}12$ 侧链 N δ (受体) 仅能与 $^1\text{Ser}195$ O γ (供体) 形成弱的氢键 (3.68 Å)。 $^v\text{His}12$ 骨架 N 也与 $^1\text{Gly}193$ 骨架 N 和 $^1\text{Cys}42$ S γ 通过水分子 (浅蓝色) 形成氢键。因此, $^1\text{Ser}195$ O γ 被赋予弱亲核性, 并且不能攻击底物的骨架碳。由于 $^1\text{Gly}193$ 骨架 N 参与该氢键网络, 氧负离子孔的形成也被破坏。

[0162] 图 10 显示了凝血酶与 s-variegins 之间的首要次位点相互作用。对于 s-variegins, 仅显示了残基 P2' 至 P5' ($^v\text{His}12$ 至 $^v\text{Ala}15$)。在结构中不能描绘 s-variegins P1' $^v\text{Met}11$ 的密度。凝血酶 S2' 次位点 (红色) (由 $^1\text{Cys}42$, $^1\text{His}57$, $^1\text{Trp}60D$, $^1\text{Lys}60F$, $^1\text{Glu}192$ 和 $^1\text{Ser}195$ 形成) 与蛭素类似物 -3 中保守的 S1' 次位点部分重叠。s-variegins P3' $^v\text{Lys}13$ 侧链与 $^1\text{Glu}192$ 侧链靠近且平行, 并且其骨架与 $^1\text{Leu}41$ 接触, 形成 S3' 次位点 (青色)。S-variegins

P4' ^VThr14 侧链朝向自我裂解环的底部, 占据由 ^TGly142, ^TAsn143, ^TGlu192, ^TGly193 和 ^TGlu151 形成的小袋, 形成了 S4' 次位点 (粉色)。底部的 ^TLeu40 沿着凝血酶 S5' 次位点 (绿色), 这允许 s-variegain P5' ^VAla15 将其侧链埋于界面处。

[0163] 图 11 显示 :s-variegain 紧密适合凝血酶的峡谷样裂口。

[0164] (A) 凝血酶具有深谷样裂口 (加框), 起始于活性位点, 延伸至外部位点 -I。

[0165] (B) 整个 s-variegain (粉色的 CPK 模型) 紧密适合于延伸的构象中峡谷样裂口的底部, 覆盖催化袋、首要次位点和外部位点 -I。裂口的底部主要由非极性残基组成。裂口的壁由凝血酶活性位点附近的 60- 环和自我裂解环以及外部位点 -I 处的 34- 和 70- 环形成。

[0166] (C) 根据位置以颜色显示了与 s-variegain 相互作用的凝血酶残基 :催化袋——蓝色 ;60- 环——红色 ;自我水解环——青色 ;34- 环——黄色 ;70- 环——绿色 ;裂口底部——橙色。以粉色显示了 s-variegain 的球棍模型。

[0167] (D) s-variegain 通过特定侧链的接触与凝血酶相互作用。除了 5 个残基 (^VPhe18, ^VAsp19, ^VAla22, ^VGlu26 和 ^VTyr27, 均以白色显示) 之外, s-variegain 上的所有残基的侧链都埋于与凝血酶的界面处。

[0168] 图 12 显示了新的 variegain 变体的设计。设计了新的 variegain 变体以改善凝血酶-variegain 相互作用。方法为 :首先优化 variegain 的长度, 然后优选 variegain 上的数个关键位置。

[0169] 图 13 显示了 variegain 变体 EP21 对凝血酶的抑制, EP21 是慢的紧密结合的竞争性抑制剂。

[0170] (A) EP21 (0. 3nM, 1nM, 3nM, 10nM, 30nM, 100nM, 300nM, 1000nM, 3000nM 和 10000nM) 对于凝血酶 (1. 65nM) 胺裂解活性 [使用 S2238 (100 μ M)] 的抑制显示出预温育时间依赖性偏移, 这是由于结合缓慢的缘故。无预温育时, IC₅₀ 值是 176. 9±6. 8nM (实线) ;有 20 分钟预温育时, IC₅₀ 值是 16. 2±2. 9nM (虚线) (n = 3, 误差条代表 S. D.)。

[0171] (B) 以 100 μ M S2238, 不同浓度的 EP21 (18. 8nM, 25nM, 37. 5nM, 50nM, 75nM, 100nM 和 150nM) 抑制凝血酶 (1. 65nM) 的进程曲线 (未显示) 拟合入等式 $P = V_f t + (V_i - V_f) (1 - e^{-kt}) / k + P_0$ (该等式描述了慢结合抑制剂), 以获得针对所用的每个 EP21 浓度的 k 值。k 针对 EP21 浓度的曲线 (实线) 是由等式 $k = K_4 + K_3 I_t / [I_t + K_i (1 + S/K_m)]$ 描述的双曲线, 因此, 拟合进入等式以得出 K_i 为 1. 66±0. 36nM, 其代表了最初的碰撞复合物 EI 的解离常数。从等式 $K_i = K_i [K_4 / (K_3 + K_4)]$ 计算得出总体抑制常数 (Ki) 是 0. 315±0. 024nM (n = 3, 误差条代表 S. D.)。

[0172] 图 14 显示了 variegain 变体 MH18 对凝血酶的抑制 ;MH18 是快的紧密结合的非竞争性抑制剂。

[0173] (A) 以 100 μ M S2238, 测定了 MH18 (0. 1nM, 0. 3nM, 1nM, 3nM, 10nM, 30nM, 100nM, 300nM, 1000nM, 3000nM 和 10000nM) 抑制凝血酶 (1. 65nM) 的胺裂解活性的能力。剂量应答曲线不依赖于预温育时间。无预温育时, IC₅₀ 值是 10. 9±1. 2nM (实线) ;有 20 分钟预温育时, IC₅₀ 值是 11. 7±1. 9nM (虚线) (n = 3, 误差条代表 S. D.)。

[0174] (B) 由于 MH18 作为快且紧密结合抑制剂发挥作用, 所以在 100 μ M of S2238 下, 以 0. 39nM, 0. 78nM, 1. 56nM, 3. 13nM, 6. 25nM, 12. 5nM, 25nM, 50nM, 100nM 和 200nM MH18 测定了对凝血酶 (1. 65nM) 的抑制 (实线)。通过将数据拟合入等式 $V_s = (V_0 / 2E_t) \{ [(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t) \}$ 而获得的表现抑制常数 (Ki') 是 14. 9±3. 5nM。基于等式 $K_i' =$

$(S+K_m)/[(K_m/K_i)+(S/\alpha K_i)]$ 和 $K_i' = K_i$ 计算的抑制常数 (K_i) 是 $14.9 \pm 3.5 \text{ nM}$ ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0175] 图 15 显示了 variegins 变体 DV24 对凝血酶的抑制;DV24 是快的紧密结合的竞争性抑制剂。

[0176] (A) 以 $100 \mu\text{M}$ S2238, DV24 (0.1nM, 0.3nM, 1nM, 3nM, 10nM, 30nM, 100nM, 300nM, 1000nM 和 3000nM) 对于凝血酶 (1.65nM) 的抑制的剂量应答曲线显示出随着预温育时间的增加而右移,这是由于切割造成的。没有温育时, IC_{50} 值是 $7.49 \pm 0.28 \text{ nM}$ (实线);有 20 分钟预温育时, IC_{50} 值是 $10.07 \pm 0.60 \text{ nM}$ (虚线) ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0177] (B) 由于 DV24 作为快且紧密结合的抑制剂发挥作用,以 $100 \mu\text{M}$ S2238, 测定了 0.39nM, 0.78nM, 1.56nM, 3.13nM, 6.25nM, 12.5nM, 25nM, 50nM, 100nM 和 200nM DV24 对于凝血酶 (1.65nM) 的抑制 (实线)。通过将数据拟合进入等式 $V_s = (V_o/2E_t) \{[(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t)\}$ 而获得的表观抑制常数 (K_i') 是 $9.74 \pm 0.91 \text{ nM}$ 。基于等式 $K_i' = K_i(1+S/K_m)$ 计算的抑制常数 (K_i) 是 $0.306 \pm 0.029 \text{ nM}$ ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0178] 图 16 显示了 variegins 变体 DV24K10R 对凝血酶的抑制;DV24K10R 是快的紧密结合的竞争性抑制剂。

[0179] (A) 以 $100 \mu\text{M}$ S2238, DV24K10R (0.1nM, 0.3nM, 1nM, 3nM, 10nM, 30nM, 100nM, 300nM, 1000nM 和 3000nM) 对于凝血酶 (1.65nM) 的抑制的剂量应答曲线显示出随着预温育时间的增加而右移,这是由于切割造成的。没有温育时, IC_{50} 值是 $6.98 \pm 0.76 \text{ nM}$ (实线);有 20 分钟预温育时, IC_{50} 值是 $12.01 \pm 0.41 \text{ nM}$ (虚线) ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0180] (B) 由于 DV24K10R 作为快且紧密结合的抑制剂发挥作用,以 $100 \mu\text{M}$ S2238, 测定了 0.39nM, 0.78nM, 1.56nM, 3.13nM, 6.25nM, 12.5nM, 25nM, 50nM, 100nM 和 200nM DV24K10R 对于凝血酶 (1.65nM) 的抑制 (实线)。通过将数据拟合进入等式 $V_s = (V_o/2E_t) \{[(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t)\}$ 而获得的表观抑制常数 (K_i') 是 $8.27 \pm 0.85 \text{ nM}$ 。基于等式 (4) 计算的抑制常数 (K_i) 是 $0.259 \pm 0.015 \text{ nM}$ ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0181] 图 17 显示:s-variegins 中的二肽序列 $^V\text{Pro16}-^V\text{Pro17}$ (黄色) 的存在导致其骨架中的纽结。基于它们的凝血酶结构的 s-variegins (粉色,仅显示了 $C\alpha$ 的位置) 和蛭素类似物 -3 (绿色,仅显示了 $C\alpha$ 的位置) 的覆盖图揭示了 $^V\text{Phe18}$ 和 $^V\text{Asp19}$ 从蛭素类似物 -3 的它们的对应残基 Gly10 和 Asp11 移位 $3.16 \text{ \AA}$ 和 $1.70 \text{ \AA}$ (通过 $C\alpha$ 位置测定) (青色的双箭头)。因此, $^V\text{Asp19}$ 侧链以相反方向指向蛭素类似物 -3 中的类似的 Asp11 侧链。蛭素类似物 -3 中的该 Asp11 与 $^T\text{Arg73}$ 形成强离子对 (白色)。由于 $^V\text{Asp19}$ 的移位, $^T\text{Arg73NH2}$ 与 $^V\text{Asp19 OD1}$ 之间的最接近的可能距离是 $9.22 \text{ \AA}$,这使得凝血酶-s-variegins 结构中的这种相互作用不可能发生。

[0182] 图 18 显示了 variegins 变体 DV23 对凝血酶的抑制;DV23 是快的紧密结合的竞争性抑制剂。

[0183] (A) 以 $100 \mu\text{M}$ S2238, DV23 (0.1nM, 0.3nM, 1nM, 3nM, 10nM, 30nM, 100nM, 300nM, 1000nM 和 3000nM) 对于凝血酶 (1.65nM) 的抑制的剂量应答曲线显示出随着预温育时间的增加而右移,这是由于切割造成的。没有温育时, IC_{50} 是 $45.4 \pm 1.6 \text{ nM}$ (实线);有 20 分钟预温育时, IC_{50} 值是 $77.8 \pm 6.1 \text{ nM}$ (虚线) ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0184] (B) 以 $100 \mu\text{M}$ S2238, 测定了 3.91nM, 7.81nM, 15.6nM, 31.3nM, 62.5nM, 125nM,

250nM 和 500nM DV23 对于凝血酶 (1.65nM) 的抑制。通过将数据拟合进入等式 $V_s = (V_o/2E_t) \{ [(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t) \}$ 而获得的表观抑制常数 (K_i') 是 $69.6 \pm 7.8\text{nM}$ 。基于等式 $K_i' = K_i(1+S/K_m)$ 计算的抑制常数 (K_i) 是 $2.19 \pm 0.23\text{nM}$ ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0185] 图 19 显示了 variegain 变体 DV23K10R 对凝血酶的抑制; DV23K10R 是快的紧密结合的竞争性抑制剂。

[0186] (A) 在存在 $100\text{ }\mu\text{M}$ S2238 的情况下, DV23K10R (0.1nM, 0.3nM, 1nM, 3nM, 10nM, 30nM, 100nM, 300nM, 1000nM 和 3000nM) 抑制凝血酶 (1.65nM)。切割后活性的丧失是迅速的, 如剂量应答曲线的强烈右移所示。没有温育时, IC_{50} 值是 $12.9 \pm 1.0\text{nM}$ (实线); 有 20 分钟预温育时, IC_{50} 值是 $101.9 \pm 1.2\text{nM}$ (虚线) ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0187] (B) 以 $100\text{ }\mu\text{M}$ S2238, 测定了 3.91nM, 7.81nM, 15.6nM, 31.3nM, 62.5nM, 125nM, 250nM 和 500nM DV23K10R 对于凝血酶 (1.65nM) 的抑制 (实线)。通过将数据拟合进入等式 $V_s = (V_o/2E_t) \{ [(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t) \}$ 而获得的表观抑制常数 (K_i') 是 $19.1 \pm 1.9\text{nM}$ 。基于等式 $K_i' = K_i(1+S/K_m)$ 计算的抑制常数 (K_i) 是 $0.600 \pm 0.010\text{nM}$ ($n = 3$, 误差条代表 S. D.)。

[0188] 图 20 显示了注射了不同肽的斑马鱼幼虫的延迟阻塞时间 (time-to-occlusion, TTO)。向斑马鱼 4dpf (受精后天数) 幼虫中注射 10nM 500 μM 的不同肽或 10nM PBS 作为对照。通过在注射肽或 PBS 之后激光切除 20 分钟使幼虫尾静脉损伤。记录激光切除之后的 TTO, 持续 150 秒, 以比较不同肽的抗血栓效应。PBS、蛭素类似物 -1、s-variegain、EP25 和 MH22 的 TTO 分别是 19.0 ± 3.2 秒、 45.0 ± 5.5 秒、 120.8 ± 7.4 秒、 22.5 ± 6.2 秒和 33.3 ± 2.9 秒。在 150 秒内, 在注射了 DV24K10RY^{sulf} 的幼虫中没有形成血栓。除了慢结合抑制剂 EP25 之外, 肽的延长 TTO 的能力大体上与它们的 K_i 相关 ($n = 4$ 误差条代表 S. D.)。

[0189] 图 21 显示了硫酸精蛋白的中和肽对于凝血酶胺裂解活性的抑制的能力: 使用发色底物 S2238 进行测定。将硫酸精蛋白 (3mg/ml, 1mg/ml, 0.3mg/ml, 0.1mg/ml, 0.03mg/ml, 0.01mg/ml, 0.003mg/ml 和 0.001mg/ml) 与浓度为其 IC_{50} 的肽一起温育 10 分钟 (实线) - 8.25nM s-variegain (■), 11.5nM MH22 (●) 和 1.4nM DV24K10RY^{sulf} (▲), 然后加入凝血酶 (1.65nM)。以 $100\text{ }\mu\text{M}$ S2238 测定凝血酶的胺裂解活性。比较了存在和不存在硫酸精蛋白的情况下的抑制百分比, 以计算撤销百分比。s-variegain 和 MH22 可以被撤销至相似程度, 但是需要更高浓度的硫酸精蛋白以有效撤销 DV24K10RY^{sulf}。

[0190] 以浓度为其 IC_{90} 的肽进行了类似的实验 (虚线): 对于 s-variegain 是 167nM (□), 对于 MH22 是 224nM (○), 对于 DV24K10RY^{sulf} 是 13.6nM (△)。需要更高浓度的硫酸精蛋白以撤销所有 3 种肽。s-variegain 和 MH22 仍然被中和至相同的程度, 中和 DV24K10RY^{sulf} 则更难。因此, 肽的酸性 C- 末端残基最有可能负责与硫酸精蛋白的结合。

[0191] 本发明通过以下实施例进一步诠释, 以下实施例不应被解释为限制性的。在本申请中引用的所有参考文献、专利和公开的专利申请的内容通过引用方式并入本文。

实施例

[0192] 在全部实施例中使用以下参数的实例和定义:

[0193] $V = (V_{\max} S) / (S + K_m)$

[0194] 其中 V 是反应的最初速率, S 是底物 S2238 的浓度, K_m 是底物对于酶 (凝血酶) 的

Michaelis-Menten 常数。

$$[0195] \quad y = A_2 + (A_1 - A_2) / [1 + (x/x_0)^H]$$

[0196] 其中 y 是抑制百分比, A_2 是右水平渐近线, A_1 是左水平渐近线, x 是抑制剂浓度的 $\log_{10}$, x_0 是拐点, H 是曲线的斜率。通过将 ‘50’ 代入 y 计算 IC_{50} 。

$$[0197] \quad V_s = (V_o/2E_t) \{ [(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t) \}$$

[0198] 其中 V_s 是在存在抑制剂的情况下的稳态速率, V_o 在不存在抑制剂的情况下观察到的速率, E_t 是总酶浓度, I_t 是总抑制剂浓度, K_i' 是表观抑制常数。

$$[0199] \quad K_i' = K_i (1 + S/K_m)$$

[0200] 其中 K_i' 随着 S 线性增大, K_i 是抑制常数, S 是底物浓度, K_m 是对于 S2238 的 Michaelis-Menten 常数。

$$[0201] \quad K_i' = (S + K_m) / [(K_m/K_i) + (S/\alpha K_i)]$$

[0202] 其中 α 是抑制剂对于酶针对酶底物的亲和性的修饰常数, 同样地, 底物对于酶针对抑制剂的亲和性的效应。当一个的结合支持另一个时, $\alpha < 1$; 当一个的结合阻止另一个时, $\alpha > 1$; 当 $\alpha = 1$ 时, 一个的结合对于另一个无影响。对于混合类型的非竞争性抑制剂, $\alpha < 1$ 或者 > 1 。

$$[0203] \quad K_i' = K_i$$

[0204] 其中 K_i' 随着 S 增大而保持恒定, K_i 是抑制常数, S 是底物 S2238 的浓度, K_m 是 S2238 的 Michaelis-Menten 常数。

$$[0205] \quad P = V_f t + (V_i - V_f) (1 - e^{-kt}) / k + P_o$$

$$[0206] \quad k = K_4 + K_3 I_t / [I_t + K_i' (1 + S/K_m)]$$

[0207] 其中 K_i 是总体抑制常数。

$$[0208] \quad K_i = K_i' [K_4 / (K_3 + K_4)]$$

[0209] 其中 P 是形成的产物的量, P_o 是产物的最初量, V_f 是最终稳态速率, V_i 是初速率, t 是时间, k 是表观一级速率常数。

[0210] 实施例 1- 结合于凝血酶的 s-variegins 的晶体结构的测定

[0211] 材料 s

[0212] 4-(2-羟乙基)哌嗪-1-乙磺酸 (HEPES)、HEPES 钠盐和聚乙二醇 (PEG) 8000 来自 Sigma Aldrich (St. Louis, Missouri, USA)。结晶托盘和油脂购自 Hampton Research (Aliso Viejo, California, USA)。

[0213] 肽的合成、纯化和质谱

[0214] 使用固相肽合成方法在 Applied Biosystems Pioneer Model 433A Peptide Synthesizer (Foster City, California, USA) 上合成本研究中使用的肽。在预装载了各个 C-末端氨基酸的支持物树脂上组装合成的肽, 其切割以释放在 C-末端具有游离羧酸的肽。通过 DMF 中的 20% v/v 哌嗪除掉氨基酸的 Fmoc 基团, 并使用 HATU/DIPEA 以原位中和化学法偶联。合成的肽从树脂上的切割以及侧链保护基团的切割通常使用 TFA/1,2-乙二硫醇/茴香硫醚/水 (90 : 4 : 4 : 2% v/v) 的混合物在室温进行, 持续 2 小时。使用冷的乙醚沉淀合成的肽。将沉淀的肽溶解于水或 0.1% TFA 中并冻干, 然后纯化。

[0215] 通过 RP-HPLC 在 ÄKTATM 纯化系统 (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) 上使用 SunFireTM C18 (100 Å, 5 μm; 250mm x 10mm) (Waters, Milford, Massachusetts) 柱将合成

的粗肽纯化至匀质。通常使用由两种溶剂的组合产生的优化的线性洗脱梯度（溶剂 A：水中的 0.1% TFA；溶剂 B：水中的 0.1% TFA 和 80% 乙腈）洗脱肽。

[0216] 要特别注意的是含有硫代酪氨酸的肽 (DV24Y^{sulf}、DV24K10RY^{sulf} 和 MH18Y^{sulf})，其中硫酸酯基团是酸不稳定的。使用 90% 含水 TFA 在冰上进行这些肽的切割，持续 5 小时，如之前所描述过的 (Kitagawa 等人, 2001)。使用含有 0.1% FA 作为离子配对剂而非 TFA 的溶剂进行含有硫代酪氨酸的肽 (DV24Y^{sulf}、DV24K10RY^{sulf} 和 MH18Y^{sulf}) 和含有磷酸酪氨酸的肽 (DV24Y^{phos} 和 DV24K10RY^{phos}) 的纯化。在质谱分析的离子化过程中，Tyr27 上的硫酸酯部分不稳定的，因此观察到非硫酸化的物质。硫酸化肽的鉴定是基于：(1) 肽的非硫酸化的物质；(2) 与酪氨酸残基在 280nm 吸收 UV 不同，硫代酪氨酸残基不吸收；和 (3) 硫酸化和非硫酸化肽在 RP-HPLC 不共同洗脱。

[0217] 凝血酶

[0218] α -凝血酶的两种不同来源——重组 α -凝血酶（基于人 α -凝血酶的序列）和源自人血浆的凝血酶，均为 Chemo-Sero-Therapeutic Research Institute (KAKETSUKEN, Japan) 惠赠。重组 α -凝血酶在 HiTrapTM Desalting Column (GE Healthcare, Uppsala, Sweden) 上以 20mM 碳酸氢铵 (NH₄HCO₃) 脱盐并冻干，然后用于结晶。源自人血浆的凝血酶用于测定肽对于凝血酶的抑制活性。

[0219] 凝血酶-s-variegain 复合物的结晶

[0220] 修改并优化了已报道的用于结晶人 α -凝血酶的凝血酶-蛭素原和凝血酶-蛭素类似物-1 复合物的结晶条件 (Skrzypczak-Jankun 等人, 1991)。将冻干的 s-variegain 溶解于含有 375mM NaCl 的 50mM HEPES 缓冲液 (pH 7.4) 中，达到 8.34 μ M (3mg/ml) 的浓度。然后，将脱盐的、冻干的、重组的 α -凝血酶溶解于该 s-variegain 溶液中，达到 5.56 μ M (20mg/ml) 的终浓度。该混合物中的 s-variegain 的量相对于凝血酶为 1.5 倍过量。使用悬滴气相扩散法进行凝血酶-s-variegain 复合物的结晶。通常而言，将 1 μ l 蛋白溶液与 1 μ l 沉淀剂缓冲液 (100mM HEPES 缓冲液 pH 7.4，其中含有 20% -25% (w/v) PEG 8000) 混合，然后在 4°C 以 1ml 沉淀剂缓冲液进行平衡。在大约 4 周之后出现晶体，2 周后收获之以进行数据收集。设立、生长和收获晶体的整个过程在冷室 (4°C) 中进行，因为晶体在室温是不稳定的。

[0221] 数据收集

[0222] 在数据收集之前，将晶体简单地浸于含有母液的补充了 25% (v/v) 甘油的冷冻保护溶液中，并闪冷于 100K 的氮 (气) 冷流 (Cryostream cooler, Oxford Cryosystem, Oxford, United Kingdom)。在 Beamline X29 (National Synchrotron Light Source, Brookhaven, USA) 中测定同步加速器数据。使用 Quantum 4-CCD 检测器收集数据集 (表 1)。使用程序 HKL2000 (Otwinowski and Minor, 1997) 处理衍射数据。晶体属于单斜晶系空间组 C2 并衍射最大至 2.7 Å 的分辨率， $a = 124.66$ Å, $b = 50.83$ Å, $c = 61.54$ Å 和 $V = 385390.59$ Å³ Da⁻¹，并对应于 59.09% 的溶剂含量。

[0223] 结构之解决和精修

[0224] 使用 MolRep 程序 (Vagin and Teplyakov, 2000)，通过分子替代法解决凝血酶-s-variegain 复合物的结构。使用凝血酶-蛭素类似物-3 结构的坐标 (PDB 代码 1ABI) (Qiu 等人, 1992) 作为搜索模型。旋转搜索定位了非对称单元中的一个凝血酶-肽复合物分子。确定转换成分之后的刚性体精修给出了 0.60 的相关系数，并且 $R = 0.48$ 。得到的电子

密度图质量很好。傅立叶和差别傅立叶图谱清楚地显示了 s-variegins 的电子密度。使用 7.0 版本的程序 O (Jones 等人, 1991) 进行的图谱拟合和使用 1.1 版本的程序 CNS (Brunger 等人, 1998) 进行的精修的数个循环产生 R 值的收敛。结晶学和精修统计显示于表 1。使用 PROCHECK (Laskowski 等人, 1993) 验证该模型的空间化学的正确性。使用在线服务器 PISA (Krissinel and Henrick, 2007) 分析蛋白 (图 2)。

[0225] 表 1- 来自当前模型的结晶学数据和精修统计

[0226] 结晶学数据和精修统计 *

数据集		凝血酶-s-variegins 复合物		
晶体				
空间组		C2		
晶胞参数		a = 124.66 Å	b = 50.83 Å	c = 61.54 Å
		$\alpha = 90.0^\circ$	$\beta = 98.7^\circ$	$\gamma = 90.0^\circ$
数据收集				
分辨率范围	(Å)	50 – 2.7		
波长	(Å)	0.9795		
观察到的反射		261706		
独特反射		15123		
完整性	(%)	96.3		
总计	(I/ σ I)	19.4		
丰度		17.3		
R _{sym} ^a	(%)	5.2		
精修和质量				
分辨率范围	(Å) I> σ (I)	20–2.7		
R _{work} ^b		0.2598		
R _{free} ^c		0.3301		
RMSD 键长	(Å)	0.007		
RMSD 键角	(°)	1.5		
平均B-因子 ($\text{\AA}^2$)				
蛋白质原子 (2404原子)		66.709		
水分子 (203原子)		68.160		
Ramachandran 作图				
最优区	(%)	76.2		
额外许可区	(%)	22.5		
宽大许可区	(%)	1.3		
不许可区	(%)	0		

[0228] * 来自当前模型的统计。

[0229] $R_{\text{sym}} = \sum_{\text{hkl}} \sum_i [|I_i(\text{hkl}) - \langle I(\text{hkl}) \rangle|] / \sum_{\text{hkl}} I(\text{hkl})$

[0230] $R_{\text{work}} = \sum |F_{\text{obs}} - F_{\text{calc}}| / \sum |F_{\text{obs}}|$ 其中 F_{calc} 和 F_{obs} 分别是计算的和观察的结构因子

幅度。

[0231] R_{free} = 关于 R_{work} , 但是对于随机选择的 8.0% 的总反射并且从精修中省略。

[0232] 表 2- 凝血酶-s-varieggin 复合物与其它结构之间的均方根偏差 (RMSD)

[0233] 2HGT 和 1ABI 表示在活性位点和外部位点 -I 均抑制的凝血酶, 类似于凝血酶-s-varieggin 复合物。1HGT 表示仅在外部位点 -I 抑制的凝血酶。1PPB 表示仅在活性位点抑制的凝血酶。2AFQ 表示抑制剂和无 Na^+ 凝血酶。与 2AFQ 相比发现最高差别, 主要由于在“慢”型凝血酶中表面环中的广泛变化。RMSD 由 $\text{C}\alpha$, 凝血酶 A- 链和 B- 链以及 C 末端区段 (DFEA(E) IPEEYL) 的骨架和侧链原子计算, 该区段在 s-varieggin, 蛭素类似物 -1, 蛭素类似物 -3 和蛭素原中是相同的。NP: 相关原子不存在。

	2HGT	1ABI	1HGT	1PPB	2AFQ
A-链					
	RMSD (Å)				
$\text{C}\alpha$	0.34	0.35	0.35	0.63	0.61
骨架原子	0.56	0.60	0.67	0.59	0.75
侧链原子	1.68	1.59	2.27	1.75	1.61
B-链					
	RMSD (Å)				
$\text{C}\alpha$	0.59	0.55	0.52	0.70	1.35
骨架原子	0.65	0.59	0.59	0.73	1.33
侧链原子	1.33	1.21	1.19	1.29	2.30
DFEA(E)IPEEYL					
	RMSD (Å)				
[0234] $\text{C}\alpha$	NP	3.62	3.87	NP	NP
骨架原子	NP	3.40	3.63	NP	NP
侧链原子	NP	7.00	7.06	NP	NP
DFEA(E)I					
	RMSD (Å)				
$\text{C}\alpha$	1.46	1.22	1.26	NP	NP
骨架原子	1.46	1.24	1.34	NP	NP
侧链原子	3.05	2.96	2.88	NP	NP
PEEYL					
	RMSD (Å)				
$\text{C}\alpha$	NP	4.98	5.33	NP	NP
骨架原子	NP	4.64	4.96	NP	NP
侧链原子	NP	9.01	9.11	NP	NP

[0235] 实施例 2- 被凝血酶切割之后产生 varieggin 的非竞争性抑制剂

[0236] 材料、凝血酶、合成方法、纯化和肽的质谱分析如实施例 1 所描述。

[0237] 切割的 RP-HPLC 分析

[0238] 在室温在含有 100mM NaCl 和 1mg/ml BSA 的 50mM Tris 缓冲液 (pH7.4) 中温育肽与重组 α -凝血酶。设立无凝血酶的反应混合物作为对照。在多个温育时间之后,以 0.1% TFA 缓冲液 (pH 1.8) 猝灭反应并装载入连接于 ÄKTATM 纯化器的 SunFire™ C18 柱。除了存在于对照反应混合物与 0 分钟的温育的色谱图中的那些峰之外的新的峰鉴定为切割产物,并进行 ESI-MS 以验证它们的质量。将峰积分以计算峰下面积和每个峰的相对百分比,以确定切割程度。

[0239] 凝血酶对肽的切割

[0240] Variegin 被假设为规范地结合凝血酶的活性位点,因此认为其可以被凝血酶切割,这类似于其它丝氨酸蛋白酶抑制剂 (Witting 等人,1992 ;Bode and Huber,1992)。因此,我们检测了凝血酶对 s-variegin 的切割及其对于肽活性的效应。RP-HPLC 分析显示在 37°C 和室温 ($\sim 25^\circ\text{C}$),凝血酶的确切割 s-variegin。在温育 0 分钟时,仅存在对应于全长 s-variegin 和凝血酶的峰。随着温育时间的延长,出现了 2 个新的切割产物峰并增大 (图 3)。这些新的峰分别具有 1045Da (SDQGDVAEPK ;SEQ ID NO :2) 和 2582Da (MHKTAPPDFEAIPEEYLDDDES ;MH22 ;SEQ ID NO :3) 的质量,并对应于 Lys10-Met11 肽键处的切割。切割在 37°C (图 3A) 比在 25°C (图 3B) 时快。

[0241] 切割产物 MH22 对于凝血酶胺裂解活性的抑制

[0242] 为了测定 variegin 的切割产物是否确实负责其延长的活性,合成了切割的 C- 末端片段 (MHKTAPPDFEAIPEEYLDDDES ;MH22 ;SEQ ID NO :3)。选择该片段主要是由于:通过 X- 射线衍射获得的凝血酶-variegin 结构的初步数据表明 MH22 在切割后与凝血酶结合。

[0243] MH22 的抑制常数 K_i

[0244] 使用 S2238 作为底物测定 MH22 的抑制常数 K_i 。MH22 是快且紧密结合的抑制剂。在存在不同浓度的 S2238 的情况下,使用等式 $V_s = (V_o/2E_t) \{ [(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t) \}$ 确定表观抑制常数 K_i' 。s-variegin 的 K_i' 随着 S2238 的浓度增大而线性增大 (如等式 $K_i' = K_i (1 + S/K_m)$ 所示),与其不同,MH22 的 K_i' 值随着 S2238 浓度的变化保持恒定。曲线的该行为适合描述非竞争性抑制剂的等式,其中 $\alpha = 1$ (使用等式 $K_i' = (S + K_m) / [(K_m/K_i) + (S/\alpha K_i)]$),因此 $K_i' = K_i$ (如等式 $K_i' = K_i$ 所示)。通过线性回归拟合 K_i' 值得出 K_i 值为 $14.11 \pm 0.29\text{nM}$ (图 7)。当以源自人血浆的凝血酶测定时,s-Variegin 显示出 $0.318 \pm 0.020\text{nM}$ 的 K_i (重组 α -凝血酶的 K_i 是 $0.146 \pm 0.014\text{nM}$)。因此,全长的肽 s-variegin 是竞争性抑制剂,其切割产物 MH22 是凝血酶活性位点功能的非竞争性抑制剂。

[0245] MH22 以等摩尔浓度 ($\sim 15\%$) 抑制凝血酶的胺裂解活性,并且抑制的进程曲线显示:在混合后达到了稳态平衡。因此,类似于 s-variegin,MH22 是快且紧密结合的抑制剂。剂量应答曲线显示 IC_{50} 值为 $11.46 \pm 0.71\text{nM}$ (图 5)。源自人血浆的凝血酶的 s-Variegin 抑制具有 $8.25 \pm 0.45\text{nM}$ 的 IC_{50} 值 (图 5),稍高于重组 α -凝血酶 ($5.40 \pm 0.95\text{nM}$) 的 IC_{50} 值 (数据未显示)。

[0246] 证明了 MH22 非竞争性抑制凝血酶。通常而言,非竞争性抑制剂结合于远离酶活性位点的位点,并且空间异构地抑制活性位点功能。然而,MHKT 四肽紧邻裂解键。直观上讲,该区段与凝血酶的结合似乎在活性位点内。本实验中使用的底物 S2238 具有 D-Phe-Pipecolyl-Arg-pNA 的化学结构,其 Arg 侧链插入凝血酶 S1 次位点,切割发生于

Arg-pNA 之间。由于 pNA 部分在胺裂解过程在紧邻裂解键处也占据 S1', 因此, 理论上其存在应该干扰 MH22 与相同位点的结合。在这样的情况下, α 应该 > 1 (使用等式 $K_i' = (S+K_m)/[(K_m/K_i)+(S/\alpha K_i)]$), 并且 K_i 针对底物浓度的作图应该随着底物浓度的增加而以双曲线方式增加 (Copeland, 2000)。这种类型的非竞争性抑制通常被称作“混合抑制”。然而, 在我们的实验条件下, 表观抑制常数 K_i' 随着底物浓度的变化保持严格恒定。因此, MH22 作为经典的非竞争性抑制剂发挥作用, 其以相同的亲和性与游离的凝血酶和凝血酶-底物复合物结合 (图 8)。同样地, 关于 pNA 干扰 MH22 结合的假设是不成立的。因此, MH22 与 pNA 在凝血酶上的结合位点是非重叠的, 这说明紧邻裂解键之后的残基 (Met11) 可能不与凝血酶结合或在除了通常观察到的 S1' 之外的不同位点结合。

[0247] 实施例 3-variegin 变体的设计和表征

[0248] 基于凝血酶-s-variegin 结构以及凝血酶相互作用中可获得的背景信息设计了 13 种新的 variegin 变体。一般方法是: 首先优化 variegin 的长度, 然后优化 variegin 上的数个关键位置以获得与凝血酶的最大相互作用 (图 12)。

[0249] 实施例 4- 凝血酶抑制活性

[0250] 通过它们在 S2238 上抑制凝血酶胺裂解活性的能力测定 s-variegin (SEQ ID NO: 1)、EP25 (SEQ ID NO: 6)、MH22 (SEQ ID NO: 3) 和蛭素类似物-1 (SEQ ID NO: 14) 的活性。

[0251] 使用发色底物 S2238, 通过抑制重组 α -凝血酶的胺裂解活性来测定每种肽的活性。所有的测定在 96 孔微量滴定板中含有 100mM NaCl 和 1mg/ml BSA 的 50mM Tris 缓冲液 (pH 7.4) 中在室温进行。通常将 100 μ l 肽与 100 μ l 重组 α -凝血酶预温育不同的时间段, 然后加入 100 μ l S2238。每个实验的细节与代表所获得的结果的图形一起描述。使用 SPECTRAMaxPlus 微板分光光度计, 在 405nm 追踪有色产物 pNA 的形成速率, 持续 10 分钟。通过将不存在抑制剂的情况下吸收值的增加速率定为 0% 来计算抑制百分比。使用 Origin 软件拟合剂量应答曲线, 以计算 IC_{50} 值, 使用下列 logistic sigmoidal 等式: $y = A_2 + (A_1 - A_2) / [1 + (x/x_0)^H]$, 其中 y 是抑制百分比, A_2 是右水平渐近线, A_1 是左水平渐近线, x 是抑制剂浓度的 $\log_{10}$, x_0 是拐点, H 是曲线的斜率。通过将 '50' 代入 y 计算 IC_{50} 。

[0252] 使用相同的测定法确定预温育时间 (及由此的切割) 对于肽的凝血酶抑制活性的影响: 改变预温育时间和 / 或 BSA 的浓度。对于用来确定在延长的温育时间内凝血酶外部位点 -I 的完整性的实验, 通过在 28 小时预温育后加入或不加入新鲜制备的抑制剂来进行平行实验组。将获得的所有数据使用 Origin 软件拟合进入 $y = A_2 + (A_1 - A_2) / [1 + (x/x_0)^H]$ 等式以计算 IC_{50} 值,

[0253] 对于紧密结合抑制, 拟合进入等式: $V_s = (V_0/2E_t) \{ [(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t) \}$;

[0254] 对于竞争性抑制, 拟合进入等式 $K_i' = K_i (1 + S/K_m)$;

[0255] 对于非竞争性抑制, 拟合进入等式 $K_i' = (S + K_m) / [(K_m/K_i) + (S/\alpha K_i)]$;

[0256] 对于经典的非竞争性抑制, 拟合进入等式 $K_i' = K_i$;

[0257] 对于慢结合抑制, 拟合进入等式 $P = V_f t + (V_i - V_f) (1 - e^{-kt}) / k + P_0$;

[0258] 对于计算解离常数, 拟合进入等式 $k = K_4 + K_3 I_t / [I_t + K_i' (1 + S/K_m)]$;

[0259] 对于计算总抑制常数, 拟合进入 $K_i = K_i' [K_4 / (K_3 + K_4)]$ 。

[0260] EP21 和 MH18 对凝血酶胺裂解活性的抑制

[0261] 复合物结构中的 4 个 s-variegins C-末端残基 [^v(29DDES32)] 的电子密度的缺失表明这 4 个残基不可能与凝血酶强烈地相互作用。此外,这些残基不存在于蛭素类似物或蛭素原中。考虑到 s-variegins 与蛭素类似物/蛭素原的 C-末端构象之间的巨大差异,研究这些残基的作用将是有趣的。设计并表征了两个截短的变体:EP21(SEQ ID NO:8) 和 MH18(SEQ ID NO:9),它们分别对应于 EP25 和 MH22,但缺少那些 4 个 C-末端残基。由于 EP25 和 s-variegins 以相同的亲和性与凝血酶结合,所以没有合成 s-variegins 的 C-末端截短变体。

[0262] EP21(SEQ ID NO:8) 对凝血酶的抑制的进程曲线显示了在不存在预温育的情况下的两相平衡,其为典型的慢结合抑制剂。EP21 活性依赖于预温育的时间。 IC_{50} 从 $176.9 \pm 6.8 \text{ nM}$ (无预温育时) 下降至 $16.2 \pm 2.9 \text{ nM}$ (在 20 分钟预温育之后) (图 13A)。通过将数据拟合进入等式 $P = V_f t + (V_i - V_f) (1 - e^{-kt}) / k + P_0$, $k = K_4 + K_3 I_t / [I_t + K_i' (1 + S/K_m)]$, 和 $K_i = K_i' [K_4 / (K_3 + K_4)]$, 计算出 EP21 抑制凝血酶的抑制常数 K_i 为 $0.315 \pm 0.024 \text{ nM}$ (图 13B)。所有的数值类似于 EP25 (SEQ ID NO:6) 的数值,这表明 4 个 C-末端残基的截短不显著改变肽活性。

[0263] MH18 (SEQ ID NO:9) 以等摩尔浓度 ($\sim 15\%$) 抑制凝血酶胺裂解活性,并且在混合之后达到了稳态平衡。因此, MH18 是凝血酶的快的紧密结合抑制剂。剂量应答曲线显示 IC_{50} 值为 $10.9 \pm 1.2 \text{ nM}$ (无预温育) 和 $11.7 \pm 1.9 \text{ nM}$ (在 20 分钟预温育之后) (图 14A)。这些值基本上与使用 MH22 (SEQ ID NO:3) 获得的数据相同。使用 $100 \mu\text{M}$ S2238 获得了 MH18 的表观抑制常数 K_i' , 将数据拟合进入等式 $V_s = (V_0/2E_t) \{ [(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t) \}$ (图 14B)。假设 MH18 是如同 MH22 一样的非竞争性抑制剂, 使用等式 $K_i' = (S + K_m) / [(K_m/K_i) + (S/\alpha K_i)]$ 和 $K_i' = K_i$ 得出抑制常数 K_i 为 $14.9 \pm 3.5 \text{ nM}$, 这与 MH22 的 K_i 是一致的。这组数据确认了以上的结论: 4 个 C-末端残基不参与凝血酶结合。

[0264] DV24 对凝血酶胺裂解活性的抑制

[0265] 我们之前的数据证明了 variegins 的 7 个 N-末端残基负责其快速结合动力学; 当被除掉时, 结合特性从快速变为慢速, 亲和性不变 (数据未显示)。然后, 我们推论高度碱性的凝血酶外部位点 -II 可以辅助操纵 variegins 的 N-末端残基 (在其序列 1SDQGDVA7 中含有 2 个带负电的残基) 成为接近活性位点的最佳方向, 从而允许迅速形成短期相互作用。由于凝血酶外部位点 -II 位于距离活性位点大约 $10 \text{ \AA}$ 处 (Page 等人, 2005), 所以该距离理论上可以被延伸的构象中的至少 3 个 N-末端残基包括。为了产生保留快速结合性质的肽, 我们设计并表征了在 EP21 的 N-末端延伸了 3 个残基的肽。2 个酸性 N-末端残基中的 1 个, ^vAsp5, 存在于该变体中, 该变体被称作 DV24 (SEQ ID NO:10)。

[0266] 与就慢结合抑制剂通常所观察到的两相平衡不同, DV24 (SEQ ID NO:10) 对于凝血酶抑制的进程曲线类似于 s-variegins: 在混合之后达到稳态平衡。因此, DV24 是快的紧密结合抑制剂。DV24 的活性随着预温育时间的增加而降低, 这是由于被凝血酶切割。剂量应答曲线显示 IC_{50} 值为 $7.49 \pm 0.28 \text{ nM}$ (无预温育) 和 $10.07 \pm 0.60 \text{ nM}$ (20 分钟预温育之后) (图 15A)。假设其为竞争性抑制, 使用等式 $V_s = (V_0/2E_t) \{ [(K_i' + I_t - E_t)^2 + 4K_i' E_t]^{1/2} - (K_i' + I_t - E_t) \}$ 和 $K_i' = K_i (1 + S/K_m)$ 得出抑制常数 K_i 为 $0.306 \pm 0.029 \text{ nM}$, 这与 s-variegins 的 K_i 一致 (图 15B)。因此, 我们设法设计出比 s-variegins 短 8 个残基但保留快速结合动力学和相同的 K_i 的肽。

[0267] DV24K10R 对凝血酶胺裂解活性的抑制

[0268] variegins 与其它凝血酶底物 / 抑制剂之间的一个区别是在裂解键的 P1 位置存在 Lys。通常而言,在凝血酶底物中,Arg 存在于该位置。Arg 的侧链胍基团与 S1 次位点中的^TAsp189 的侧链羧基之间的静电相互作用通常是优选的。相反,P1 Lys 通常通过水分子与 Asp189 相互作用 (Perona 和 Craik,1995),导致降低的亲合性和特异性 (Vindigni 等人,1997)。凝血酶-s-variegins 结构中的裂解键 [^V(1SDQGDVAEPK10)] 之前的残基的电子密度的缺失可能暗示了该区段内对于凝血酶的强亲和性的缺乏。因此,使用 DV24 作为模板序列,在新变体中将 P1 残基 Lys10 替换为 Arg,该新变体被称作 DV24K10R (SEQ ID NO:11)。

[0269] 在无预温育的情况下获得的 DV24K10R 的 IC₅₀ 是 6.98±0.76nM,其类似于 DV24 的 IC₅₀ (7.49±0.28nM)。然而,在 20 分钟预温育之后,DV24K10R 的 IC₅₀ 是 12.01±0.41nM,稍高于 DV24 (10.07±0.60nM) 的 IC₅₀。在存在 P1Arg 的情况下,肽的切割有可能进行得较快 (图 16A)。对于凝血酶的亲和性稍有增大,如 Ki 值少量下降至 0.259±0.015nM 所示 (与 DV24 的 0.306±0.029nM 相比) (图 16B)。因此,将 Lys10 替换为 Arg 仅仅极小地改善了 variegins 对于凝血酶的亲和性,虽然之前观察到 P1Lys 的结合一般是 P1Arg 的 1/10 (Page 等人,2005)。考虑到该观察结果,随后在设计新变体时通常在 P1 位置上的 Lys 和 Arg 二者上进行。

[0270] DV23 和 DV23K10R 对凝血酶胺裂解活性的抑制

[0271] 将 V^{Phe}20 的苯基插入到凝血酶的非极性腔中并通过 π-π 堆积与^TPhe34 相互作用。该相互作用也存在于蛭素类似物、蛭素原和蛭素复合物结构中,并标记 C- 末端区段的起始 -DFEA(E) IPEEYL- 其中 s-variegins 和蛭素类似物 / 蛭素原几乎是相同的。在 s-variegins 中,在 P1Lys 残基与 Phe 之间存在 9 个残基 [^V(11MHKTAPPFD19)]。然而,在蛭素类似物-1/3 中,相同的距离上仅有 8 个残基 (4PGGGNGD11)。凝血酶-s-variegins 的结构分析显示:^VPro16 和^VPro17 在其骨架中诱导了纽结,引起远离凝血酶稍向上弯曲。这继而又引起^VPhe18 和^VAsp19 从蛭素类似物-3 中的它们的对应残基处 -Gly10 和 Asp11- 移位大约 3.16 Å 和 1.70 Å,如通过它们的 Cα 原子之间的距离所测 (图 17)。重要的是,蛭素类似物-3 的 Asp11 与^TArg73 形成离子配对,在类似的^VAsp19 与^TArg73 之间是不存在的。事实上,^VAsp19 侧链以相反方向指向溶剂,在^VAsp19 Oδ 与^TArg73 NH2 之间产生 9.22 Å 的距离 (图 17)。因此,从 s-variegins 序列中删除了 Pro16 以除掉骨架中的纽结,以使^VAsp19 重新定位,以恢复离子相互作用。使用 DV24 和 DV24K10R 作为模板序列,设计、合成并表征了变体 DV23 (SEQ ID NO:13) 和 DV23K10R (SEQ ID NO:12)。

[0272] DV23 和 DV23K10R 都显示出低于它们的模板的活性。DV23 的 IC₅₀ 值是 45.4±1.6nM (无预温育) 和 77.8±6.1nM (在 20 分钟预温育之后) (图 18A)。DV23 的 Ki 是 2.19±0.23nM (图 18B)。所有的数值的平均值是 DV24 活性的 ~ 1/7。另一个变体 DV23K10R 的活性也低于其模板 DV24K10R。该肽对于肽的 IC₅₀ 值是 12.9±1.0nM (无预温育) 和 101.9±1.2nM (20 分钟预温育) (图 19A)。DV23K10R 的 Ki 是 0.600±0.010nM (图 19B)。其对于凝血酶的亲和性是大致 DV24K10R 的 1/2。虽然不与凝血酶预温育时 DV23K10R 的活性高于 DV23,但是在 20 分钟预温育之后,趋势相反。这与下列观察是一致的:在 P1 具有 Arg 的肽 (DV24K10R) 以快于在 P1 具有 Lys 的肽 (DV24) 的速率被凝血酶水解。此外,活性的迅速丧失也暗示:切割产物不再有力地抑制凝血酶。因此,^VPro16 的删除似乎对于完

整肽和切割产物二者的活性都具有不利影响。考虑到 variegins 的 P' 残基靠近^VPro16, 该残基的除掉可能破坏了首要次位点内的相互作用。

[0273] 实施例 5- 凝血酶抑制剂与凝血酶活性位点之间的相互作用以及催化三联体的残基的移位

[0274] 在所观察的 17 个 s-variegins 残基中, 选择的少数 N- 末端残基是特别受关注的。将凝血酶-s-variegins 的结构与凝血酶-蛭素原的结构 (PDB:1HGT) 进行比较, 因为它们具有一个共同特征——二者都占据外部位点 -I 而非活性位点的非首要次位点 (因为 s-variegins 的 N- 末端切割片段不存在)。在 3 个催化残基 (^THis57、^TAsp102 和 ^TSer195) 中, 最显著的区别在于 ^TSer195 的 O_γ 原子。在凝血酶-s-variegins 结构中, ^TSer195 O_γ 被移位 1.1 Å。结果, 在凝血酶-s-variegins 结构中不存在与 ^THis57 的 N_ε 之间的氢键 (其本该是催化电荷中继系统的一部分)。两个原子之间的距离增加至 3.77 Å (图 9A)。凝血酶-蛭素原中的对应距离是 2.79 Å (图 9A)。^TSer195 O_γ 的移位是由于与 s-variegins 的相互作用。特别地, ^VHis12、^TSer195、^TGly193 和 ^TCys42 之间的新的和更广泛的氢键网络以及水分子打乱了催化电荷中继网。重要的是, ^VHis12 骨架 N (供体) 通过氢键 (2.77 Å) 啮合 ^TSer195 的 O_γ (受体), 而 ^VHis12 侧链 N_δ (受体) 能与 ^TSer195 O_γ (供体) 形成弱的氢键 (3.68 Å)。另外, ^VHis12 骨架 N 也与 ^TGly193 的骨架 N 和 ^TCys42 的 S_γ 通过水分子形成氢键。有效地, ^TSer195 的 O_γ 上的电子离开原位进入该氢键网络, 赋予它弱亲核性, 并且不能有效攻击底物的骨架碳。另外, 由于 ^TGly193 的主链 N 参与该氢键网络, 阻止了氧负离子孔的形成, 进一步降低了该复合物的催化能力 (图 9B)。

[0275] 在活性位点裂口周围, 包括非首要次位点 (由裂解键 N- 末端的底物残基占据) 和 Na⁺ 结合环, 没有观察到其它主要的结构变化。这说明 s-variegins 的 C- 末端切割片段 (MH22; SEQ ID NO:3) 不影响小的肽基底物例如 S2238 的结合亲和性。该观察支持就 MH22 观察到的经典的非竞争性抑制剂。如图 8 所示, 底物 (S2238) 与凝血酶的结合 (K_s) 不受 MH22 的影响, 但是由于效率低的催化, 反应的产物形成速率 (k_p) 降低。所观察到的经典的非竞争性抑制的条件排除了由 S2238 的 pNA 部分占据的相同位点中 ^VMet11 的结合。该假设得到下列的支持: 在该结构中不存在 ^VMet11 密度。因此, ^VMet11 可能不与凝血酶直接接触, 并且在复合物中是混乱的。在 ^VMet11 与凝血酶之间不存在相互作用与下列想法是一致的: 凝血酶 S1' 优选具有小侧链的残基, 例如 Gly、Ala 或 Ser (Bode 等人, 1992)。

[0276] 实施例 6-variegins 与凝血酶的外部位点之间的相互作用以及 variegins 平滑适合进入凝血酶的峡谷样裂口中

[0277] 除了氢键的广泛网络之外, s-variegins P2' 至 P5' (^VHis12、^VLys13、^VThr14 和 ^VAla15) 与凝血酶之间的其他相互作用进一步使该部分锚定于凝血酶的首要次位点。观察到由 60- 环、自我水解环和 34- 环中的残基形成的 s-variegins 的 ^VHis12 至 ^VAla15 与凝血酶表面之间的广泛界面接触 (图 10)。将残基与残基对比发现: 相对于蛭素类似物 -3 的 P2' (Gly5), s-variegins 的 P2' (^VHis12) 朝着活性位点被移位 2.77 Å (通过 C_α 原子的移位来测定)。该差异可以部分通过下列解释: 在蛭素类似物 -3 中使用 β- 同 -Arg 作为 P1, 这使 P1' 的骨架原子移位大约 1 个键长。也可能是由于 ^VHis12 参与凝血酶活性位点中的广泛的氢键网络, 这使残基更靠近 ^TSer195 (图 9B)。因此, ^VHis12 侧链占据了在蛭素类似物 -3

中观察到的小的 S1' 次位点的一部分。^VHis12 骨架 O 与 ^TLys60F N ζ 形成氢键(2.74 Å)。s-variegain 结构中的 P2' ^VHis12 被 ^TCys42、^THis57、^TTrp60D、^TLys60F、^TGlu192 和 ^TSer195 围绕并与其接触。^VHis12 占据 S1' 的一部分限制了可用于容纳 P1' ^VMet 的大侧链的空间。因此, P1' ^VMet 可能指向溶剂。P3' ^VLys 侧链与 ^TGlu192 侧链靠近且平行, 允许这俩碱基的脂肪族侧链之间的疏水性相互作用。然而, ^VLys13 与 ^TGlu21 之间的强离子配对是不太可能的, 因为两个电荷之间的距离大于 5.0 Å。^VLys13 的骨架也与 ^TLeu41 接触。P4' ^VThr 侧链似乎直接朝向自我水解环的底部, 由于环的柔性性质, 使得分析较不确定。但是, 侧链占据由 ^TGly142, ^TAsn143, ^TGlu192, ^TGly193 和 ^TGlu151 排列成的小腔。在 ^VThr14 O γ 与 ^TGlu192 骨架 O(2.53 Å) 和 ^TAsn143 O δ (3.29 Å) 之间形成氢键。P5' Ala 侧链深埋于 Leu40 排列的峡谷样裂口的底部, 提供了疏水性接触。

[0278] 凝血酶-s-variegain 在外部位点 -I 中的结合主要由疏水性相互作用驱动。整个 s-variegain 紧密适合进入从凝血酶活性位点延伸至外部位点 -I 的峡谷样裂口中 (图 11A&B)。这些环之间的很多非极性残基排列于裂口的底部。裂口的壁由凝血酶活性位点附近的 60- 环和自我水解环以及外部位点 -I 附近的 34- 环和 70- 环形成 (Rydel 等人, 1991 ;Bode 等人, 1992 ;Huntington, 2005)。s-variegain 与凝血酶的结合主要由非极性底部和裂口壁中的疏水性接触驱动。参与结合的凝血酶残基是 : (i) 在这些表面环的底部 : ^TMet32、^TLeu40、^TLeu41、^TCys42、^TLeu65、^TArg67、^TLys81、^TIle82 和 ^TMet84 ; (ii) 在 60- 环中 : ^TTrp60D 和 ^TLys60F ; (iii) 在自我水解环中 : ^TGly142、^TAsn143 和 ^TGln151 ; (iv) 在 34- 环中 : ^TPhe34、^TLys36、^TPro37、^TGln38 和 ^TGlu39 ; (iv) 在 70- 环中 : ^TArg73、^TThr74、^TArg75、^TTyr76 和 ^TArg77A (图 11C)。特定的侧链相互作用是重要的, 因为除了整个 s-variegain 多肽链上的 5 个残基 (^VPhe18、^VAsp19、^VAla22、^VGlu26 和 ^VTyr27) 之外的所有残基的侧链都埋于与凝血酶的界面中 (图 11D)。同样, 所观察到的最强的疏水性接触中的一些包括 : (1) ^VPhe20 与 ^TMet32、^TPhe34 (π - π 堆积) 和 ^TLeu40 ; (2) ^VIle23 与 ^TPhe34、^TLeu65、^TTyr76 和 ^TIle82 ; (3) ^VPro24 与 ^TTyr76。

[0279] 与峡谷样裂口的底部的非极性性质不同, 这些环、尤其是 70- 环的顶部表面主要是带正电的残基。这些碱性残基包括 ^TArg35、^TLys36、^TArg73、^TArg75、^TLys81、^TArg77A、^TLys109、^TLys110 和 ^TLys149E, 在非极性的峡谷样裂口上形成带正电的入口。虽然在 s-variegain C- 末端中存在多个酸性残基 (^VAsp19、^VGlu21、^VGlu25 和 ^VGlu26), 但在 ^VGlu21 与 ^TArg75 之间仅形成 1 个离子对。有趣的是, 在蛭素类似物、蛭素原和蛭素结构中, 类似的 Glu 与 2 倍对称相关分子的 ^TArg75 形成离子对 (Rydel 等人, 1990 ;Skrzypczak-Jankun 等人, 1991 ;Qiu 等人, 1992)。

[0280] 该相互作用被指发生于溶液中的相同的凝血酶-抑制剂对中, 虽然在结构上没有观察到它 (Rydel 等人, 1990)。相对于蛭素类似物-3 的 ^TArg75, 在我们的结构中, ^TArg75 侧链在 C γ 周围被旋转 96.8°, 以促进与 ^VGlu21 的静电相互作用, 提供了关于存在预测的相互作用的结构上的证据。类似地, 在蛭素类似物-1/3 和蛭素原结构中, 仅观察到 1 个离子对。然而, 该相互作用是在 ^TArg73 和对应于 ^VAsp19 的 Asp 之间。在凝血酶-s-variegain 结构中形成等同的离子对是不可能的, 因为 ^VAsp19 侧链以相反方向指向溶剂。侧链方向上的该变化最可能是由于 s-variegain 中的扭结, 其是由 Pro16-Pro17 诱导的。

[0281] 在峡谷样裂口的底部是相对平坦的由凝血酶残基 ^TAsp63-^TIle68 和 ^TLys81-^TLeu85

形成的表面。虽然彼此靠近地存在,但是 s-variegins 的 C-末端残基^VPro24 至^VLeu28 在该表面的顶部松散地堆积,其中两个侧链(^VGlu26 和^VTyr27)指向溶剂(图 11D)。虽然具有相似的序列,但是,当与蛭素类似物-3/蛭素原比较时,该 s-variegins 区段为不同的构象。相对于受限的峡谷样裂口,该区域周围的相对开放的表面可以负责以上讨论的蛭素/蛭素类似物/蛭素原/s-variegins C-末端的构象异质性。

[0282] 实施例 7- 静脉血栓的动物模型

[0283] 材料

[0284] 成年斑马鱼和斑马鱼幼虫维持于北德克萨斯大学生物科学系 (Department of Biological Sciences, University of North Texas, Denton, Texas, USA)。

[0285] 肽的合成、纯化和质谱

[0286] 所有的肽的合成、纯化和质谱分析沿用实施例 1 中描述的程序。

[0287] 斑马鱼的饲养

[0288] 以两个 1L 的槽组装饲养斑马鱼的槽。切掉 1 个槽的底部并置于无菌网上。然后,将该槽插入具有完整底部的第二个槽中。然后,在光循环的末期,将一对斑马鱼置于饲养槽中。所述的网用于分离顶部槽中的斑马鱼的对。在下一次光循环的前 2 小时内,第一条开始产卵,在网的保护下,在饲养槽的底部收集卵。除掉鱼后,将饲养槽中的水通过盐水捕虾网过滤,其保留卵。立即将网在含有 E3 培养基 (5mM NaCl, 0.17mM KCl, 0.33mM CaCl₂, 0.33mM MgSO₄ 和 10-5% 亚甲蓝) 的 Petri 培养皿中倒置,释放卵和其它污染性物质,例如粪便。然后将卵转移至具有塑料巴斯德移液管的新鲜的 E3 培养基中。重复该清洗步骤 2 次,然后将卵转移至新的槽并维持于 28.5°C 以孵化。

[0289] 微注射

[0290] 使用受精后 4 天 (dpf) 的幼虫测定肽在静脉血栓模型中的体内活性。使用具有牵引于垂直的移液管拔具 (Knopf, Tujunga, California) 上的玻璃注射针头 (3.5-in. capillaries) 的 Nanoject II (Drummond, Broomall, Pennsylvania, USA) 进行肽的静脉内微注射。使用小的剪刀夹住牵引的针头的尖端并注入溶解于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的 500 μM 的肽。将 10nl 肽或 PBS 通过后 (尾部) 主静脉注射进入幼虫的循环。

[0291] 斑马鱼幼虫封装于琼脂糖中

[0292] 将每个注射了肽的幼虫置于加入了 6 μl 三卡因溶液 (用于麻醉) 的 10mM 0.5ml 蒸馏水中。向其中加入含有幼虫等体积的 1% 低熔点琼脂糖溶液 (维持于 35°C 水浴中) 的水。将混合物 (含有麻醉的幼虫) 倒入玻璃显微镜载玻片上的长方形垫圈内,以将幼虫恰好以其大小封装于琼脂糖中。

[0293] 激光切除

[0294] 使用通过香豆素 440 染料 (445nm) 泵运的脉冲的氮激光 (MicroPoint Laser system, Photonic Instrument, St Charles, Illinois, USA), 以 10 个脉冲 / 秒, 以设定为 10 的激光强度, 进行幼虫静脉的激光切除。在切除之前测定激光的精确性。在微注射肽之后 20 分钟进行每个幼虫的激光切除。将玻璃载玻片置于 Optiphot 相差荧光显微镜 (Nikon, Melville, New York, USA) 下。以 20 倍镜头 (10 倍目镜) 观察幼虫以定位用于激光切除的位点, 其为: 距离肛门孔的尾部末端 5 个体节处 (数据未显示)。瞄准切除位点内的尾部静脉的激光束被激发 3 秒。使用连接于家庭影院系统 (VHS) 记录仪和监视器的数码相机记录

该过程。监视由于激光切除造成的静脉损伤之后的血栓的形成,并记录损伤的静脉完全阻塞所需的时间。

[0295] 使用斑马鱼幼虫的静脉血栓模型,选择了 5 种抑制剂作为代表性的肽以测定它们的体内抗血栓效应。它们是:(1)s-variegins(天然 variegins 的全长序列;快速紧密结合竞争性抑制剂; $K_i = 0.318 \pm 0.020 \text{ nM}$;SEQ ID NO:1);(2)EP25(无 7 个 N-末端残基,具有类似于凝血酶的亲和性,但其为慢结合抑制剂; $K_i = 0.370 \pm 0.11 \text{ nM}$;SEQ ID NO:6);(3)MH22(切割产物,其为快速紧密结合非竞争性抑制剂; $K_i = 14.11 \pm 0.29 \text{ nM}$;SEQ ID NO:3);(4)DV24K10RYsulf(具有有力的体外活性的肽; $K_i = 0.0420 \pm 0.0061 \text{ nM}$;SEQ ID NO:16);和(5)蛭素类似物-1(目前市场上的快速紧密结合竞争性抑制剂; $K_i = 2.94 \pm 0.12 \text{ nM}$;SEQ ID NO:14)。蛭素类似物-1 用作实验的阳性对照。

[0296] 所有 5 种肽以单剂($500 \mu\text{M}$, 10 nL)通过后(尾部)主静脉注射进入斑马鱼幼虫的循环。通过在激光切除之后所有的肽延迟尾静脉的阻塞时间(TTO)的能力来测定肽的抗血栓效应。在激光切除之后,野生型 4dpf 幼虫的对照 TTO 是大约 21 秒(Jagadeeswaran 等人, 2006)。通常而言,如果血栓形成被抑制(由于抗血栓试剂或遗传缺陷),TTO 可以被延长至 150 秒,在这之内不会发生完全阻塞(Seongcheol Kim,私人通信)。因此,基于一些初步实验仔细选择了注射剂量($500 \mu\text{M}$, 10 nL),以使得可以获得多数(如果非全部)肽的确定的 TTO(数据未显示)。

[0297] 注射了相同体积的 PBS 的斑马鱼幼虫具有 19.0 ± 3.2 秒的 TTO(平均值 $\pm$ S.D.)(图 20)。s-variegins($K_i = 0.318 \pm 0.020 \text{ nM}$)强烈抗血栓,具有 120.8 ± 7.4 秒的 TTO。与此相反,EP25 虽然具有类似于 s-variegins 的 K_i ,但不显示任何活性。EP25 的 TTO 为 22.5 ± 6.2 秒,相对于注射了 PBS 的相同批次的幼虫,其不显示任何显著的抗血栓效应。MH22($K_i = 14.11 \pm 0.29 \text{ nM}$)显示出良好的活性, TTO 为 33.3 ± 2.9 秒。DV24K10RYsulf($K_i = 0.0420 \pm 0.0061 \text{ nM}$)是最有力的抑制剂,其完全抑制了血栓形成(数据未显示)。蛭素类似物-1/比伐卢定($K_i = 2.94 \pm 0.12 \text{ nM}$),作为参考药物,延长了 TTO 至 45.0 ± 5.5 秒。总体上,除了 EP25 之外,肽的抗血栓效应与它们对于凝血酶的亲和性良好相关联。因此,慢结合抑制模式(EP25)对于体内功效是不理想的,而快速竞争性(s-variegins、DV24K10RYsulf 及蛭素类似物-1)和快速非竞争性(MH22)抑制是有效的(图 20)。我们的结果与之前报告的关于快速凝血酶抑制对于有效抗血栓试剂的重要性的类似观察(Stone 和 Tapparelli, 1995)是一致的。

[0298] 实施例 8- 肽对于凝血酶的抑制活性的中和

[0299] 使用发色底物 S2238 测定了硫酸精蛋白中和肽对凝血酶胺裂解活性的抑制的能力。精蛋白是最初提取自鱼精子细胞核的高度阳离子性肽的混合物。硫酸精蛋白在临床上用于通过结合阴离子性肝素分子而撤销肝素的抗凝效应(Schulman 和 Bijsterveld, 2007)。Variegins 在其 C-末端具有数个可作为硫酸精蛋白靶标的酸性残基。该选择是首次开创,因为关于施用硫酸精蛋白具有充分的临床经验。

[0300] 所有的测定在 96 孔微量滴定板中在含有 100 mM NaCl 和 1 mg/mL BSA 的 50 mM Tris 缓冲液(pH 7.4)中在室温进行。通常将 $100 \mu\text{L}$ 肽与 $100 \mu\text{L}$ 硫酸精蛋白预温育 10 分钟,然后加入 $50 \mu\text{L}$ 源自人血浆的凝血酶。加入 $50 \mu\text{L}$ S2238 以启动反应。使用 SPECTRAMax Plus 微板分光光度计(Molecular Devices, Sunnyvale, California, USA),在 405 nm 测定

有色产物 pNA 的形成速率,持续 10 分钟。比较了存在和不存在硫酸精蛋白的情况下的抑制百分比以计算撤销百分比。

[0301] 将固定浓度的 s-variegin、DV24K10RY^{sulf} 和 MH22 (在它们各自的 IC₅₀ 和 IC₉₀) 与多个浓度的硫酸精蛋白一起温育,然后测定它们的残余的凝血酶抑制活性。硫酸精蛋白以剂量依赖性方式撤销了所有 3 种肽的效应 (图 21)。s-variegin 和 MH22 的活性被撤销至相似的程度。在 s-variegin (8.25nM) 和 MH22 (11.5nM) 的 IC₅₀,以 0.1mg/ml 的硫酸精蛋白达到了大约 50% 的撤销。撤销百分比在大约 75% 达到饱和,虽然有高浓度的硫酸精蛋白。与此相反,对于 DV24K10RY^{sulf} 的 IC₅₀ 浓度 (1.4nM),需要 1mg/ml 的硫酸精蛋白以达到 ~50% 的撤销。如所预期,中和 IC₉₀ 时的肽所需的硫酸精蛋白的浓度更高于 IC₅₀ 时的肽所需的硫酸精蛋白的浓度 (图 21)。因此,硫酸精蛋白能够中和多数 variegin 肽的效应。s-variegin 和 MH22 具有相同的 C-末端 (由 MH22 序列代表),但是 DV24K10RY^{sulf} C-末端 (由 MH18Y^{sulf} 序列代表) 是硫酸化的并且具有针对凝血酶的更强的亲和性。s-variegin 和 MH22 被中和至相似的程度。需要更高浓度的硫酸精蛋白以撤销 DV24K10RY^{sulf}。因此,硫酸精蛋白与肽之间的结合可能是通过 variegin 肽的酸性 C-末端介导的。

[0302] 参考文献

[0303] Huntington JA. (2005) 凝血酶的分子识别机理血栓症和止血法杂志 3 : 1861-1872 (Molecular recognition mechanisms of thrombin Journal of Thrombosis and Haemostasis 3 :1861-1872).

[0304] Davie EW, Fujikawa K, Kisiel W (1991) 凝固级联:启动、维持和调节生物化学 30 :10363-10370 (The coagulation cascade: initiation, maintenance, and regulation Biochemistry 30 :10363-10370).

[0305] Davie EW. (2003) 血液凝固的瀑布 / 级联的简明历史综述生物化学杂志 278 : 50819-50832 (A brief historical review of the waterfall/cascade of blood coagulation Journal of Biological Chemistry 278 :50819-50832).

[0306] Lane DA, Philippou H, Huntington JA. (2005) 指导凝血酶血液 106 : 2605-2612 (Directing thrombin Blood 106 :2605-2612).

[0307] Hirsh J, O' Donnell M, Weitz JI (2005) 新的抗凝剂血液 105 :453-463 (New anticoagulants Blood 105 :453-463).

[0308] Gurm HS, Bhatt DL (2005) 凝血酶,药理学抑制的理想靶标:直接凝血酶抑制剂的综述美国心脏杂志 149 :S43-S53 (Thrombin, an ideal target for pharmacological inhibition: a review of direct thrombin inhibitor American Heart Journal 149 : S43-S53).

[0309] Bates SM, Weitz JI (2006) 新抗凝剂的状态英国血液学杂志 134 :3-19 (The status of new anticoagulant British Journal of Haematology 134 :3-19).

[0310] W02003091284 Anticoagulants Evolutedec Limited

[0311] Maraganore JM, Bourdon P, Jablonski J, Ramachandran KL, Fenton JW (1990) 蛭素类似物的设计和表征:凝血酶的一类新的二价肽抑制剂生物化学 29 :7095-7101 (Design and characterization of hirulogs: a novel class of bivalent peptide inhibitors of thrombin Biochemistry 29 :7095-7101).

- [0312] Skrzypczak-Jankun E, Carperos VE, Ravichandran KG et al. (1991) α -凝血酶的蛭素原和蛭素类似物1复合物的结构分子生物学杂志 221 :1379-1393 (Structure of the hirugen and hirulog 1 complexes of alpha-thrombin Journal of Molecular Biology 221 :1379-1393).
- [0313] Sambrook et al. (2000) 分子克隆:实验室手册 (Molecular Cloning :A Laboratory Manual)
- [0314] Edmunds and Colman (2006) 胸外科年鉴 82 :2315-22 (The Annals of Thoracic Surgery 82 :2315-22).
- [0315] Girolami and Girolami (2006) 血栓症和止血法研讨会 32 :803-9 (Seminars in thrombosis and hemostasis 32 :803-9)
- [0316] Lewis, B. E., and M. J. Hursting (2007) 心血管治疗专家综述 5 :57-68 (Expert Review of Cardiovascular Therapy 5 :57-68).
- [0317] Varki A. (2007) Trousseau 综合征:多种定义和多种机理. 血液 (Trousseau's Syndrome: multiple definitions and multiple mechanisms. Blood).
- [0318] Nierodzik & Karparkin (2006) 凝血酶诱导肿瘤生长、转移和血管发生:凝血酶调节的休眠肿瘤表型的证据癌细胞 10 (5) :355-62 (Thrombin induces tumor growth, metastasis, and angiogenesis: Evidence for a thrombin-regulated dormant tumor phenotype Cancer Cell 10 (5) :355-62).
- [0319] Terpe K, (2003) 应用微生物学和生物化学 60 :523-33, 2003 (Applied Microbiology and Biotechnology 60 :523-33, 2003).
- [0320] Eriksson, B. I., Smith, H., Yasothan, U., and Kirkpatrick, P. (2008). Dabigatran etexilate. 自然综述:药物发现. 7, 557-558 (Nat. Rev. Drug Discov. 7, 557-558).
- [0321] Greinacher, A. and Warkentin, T. E. (2008). 直接凝血酶抑制剂蛭素. 血栓症和止血法杂志. 99, 819-829 (The direct thrombin inhibitor hirudin. Thromb. Haemost. 99, 819-829).
- [0322] Warkentin, T. E., Greinacher, A., and Koster, A. (2008). 比伐卢定. 血栓症和止血法杂志. 99, 830-839 (Bivalirudin. Thromb. Haemost. 99, 830-839).
- [0323] Yeh, R. W. and Jang, I. K. (2006). 阿加曲班:更新. 美国心脏杂志. 151, 1131-1138 (Argatroban: update. Am. Heart J. 151, 1131-1138).
- [0324] Bode, W., Turk, D., and Karshikov, A. (1992). D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone-抑制的人 α -凝血酶的精修的 1.9-A X-射线晶体结构:结构分析、总体结构、静电特性、详细的活性位点几何学和结构-功能关系. 蛋白质科学. 1, 426-471 (The refined 1.9-A X-ray crystal structure of D-Phe-Pro-Arg chloromethylketone-inhibited human alpha-thrombin: structure analysis, overall structure, electrostatic properties, detailed active-site geometry, and structure-function relationships. Protein Sci. 1, 426-471).
- [0325] Brunger, A. T., Adams, P. D., Clore, G. M., DeLano, W. L., Gros, P., Grosse-Kunstleve, R. W., Jiang, J. S., Kuszewski, J., Nilges, M., Pannu, N. S., Read, R. J., Rice,

L. M., Simonson, T., 和 Warren, G. L. (1998). 结晶学和 NMR 系统:用于大分子结构确定的新的软件包. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 54,905-921 (Crystallography & NMR system: A new software suite for macromolecular structure determination. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 54,905-921).

[0326] Jones, T. A., Zou, J. Y., Cowan, S. W., and Kjeldgaard, M. (1991). 在电子密度图中建立蛋白模型并定位这些模型中的错误的改进的方法. *Acta Crystallogr. A* 47(Pt 2),110-119 (Improved methods for building protein models in electron density maps and the location of errors in these models. *Acta Crystallogr. A* 47(Pt 2), 110-119).

[0327] Kitagawa, K., Aida, C., Fujiwara, H., Yagami, T., Futaki, S., Kogire, M., Ida, J., and Inoue, K. (2001). 含有硫酸化酪氨酸的肽的容易的固相合成:人的大的胃分泌素-II 和缩胆囊素 (CCK)-39 的总合成. *有机化学杂志*. 66,1-10 (Facile solid-phase synthesis of sulphated tyrosine-containing peptides: total synthesis of human big gastrin-II and cholecystokinin (CCK)-39. *J. Org. Chem.* 66,1-10).

[0328] Krissinel, E. and Henrick, K. (2007). 从晶体状态的大分子组装的推论. *分子生物学杂志*. 372,774-797 (Inference of macromolecular assemblies from crystalline state. *J. Mol. Biol.* 372,774-797).

[0329] Laskowski, R. A., MacArthur, M. W., Moss, D. S., and Thornton, J. M. (1993). PROCHECK: 检查蛋白结构的化学质量的程序. *应用晶体学杂志*. 26, 283-291 (PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *J. Appl. Crystallogr.* 26,283-291).

[0330] Otlewski, J., Jelen, F., Zakrzewska, M., and Oleksy, A. (2005). 蛋白酶-蛋白抑制剂相互作用的多个方面. *EMBO 杂志*. 24,1303-1310 (The many faces of protease-protein inhibitor interaction. *EMBO J.* 24,1303-1310).

[0331] Page, M. J., Macgillivray, R. T., and Di Cera, E. (2005). 凝固蛋白酶的特异性的测定. *血栓症和止血学杂志*. 3,2401-2408 (Determinants of specificity in coagulation proteases. *J. Thromb. Haemost.* 3,2401-2408).

[0332] Perona, J. J. and Craik, C. S. (1995). 丝氨酸蛋白酶中的底物特异性的结构基础. *蛋白质科学*. 4,337-360 (Structural basis of substrate specificity in the serine proteases. *Protein Sci.* 4,337-360).

[0333] Qiu, X., Padmanabhan, K. P., Carperos, V. E., Tulinsky, A., Kline, T., Maraganore, J. M., and Fenton, J. W. (1992). 蛭素类似物 3-凝血酶复合物的结构和底物及抑制剂的 S' 子位点的性质. *生物化学*. 31,11689-11697 (Structure of the hirulog 3-thrombin complex and nature of the S' subsites of substrates and inhibitors. *Biochemistry* 31,11689-11697).

[0334] Rydel, T. J., Ravichandran, K. G., Tulinsky, A., Bode, W., Huber, R., Roitsch, C., and Fenton, J. W. (1990). 重组蛭素与人 α -凝血酶的复合物的结构. *科学* 249,277-280 (The structure of a complex of recombinant hirudin and human α -thrombin. *Science* 249,277-280).

- [0335] Rydel, T. J., Tulinsky, A., Bode, W., and Huber, R. (1991). 蛭素-凝血酶复合物的精修结构. 分子生物学杂志. 221,583-601(Refined structure of the hirudin-thrombin complex. J. Mol. Biol. 221,583-601).
- [0336] Schulman, S. and Bijsterveld, N. R. (2007). 抗凝剂及其撤销. 输血医学综述. 21,37-48(Anticoagulants and their reversal. Transfus. Med. Rev. 21,37-48).
- [0337] Skrzypczak-Jankun, E., Carperos, V. E., Ravichandran, K. G., Tulinsky, A., Westbrook, M., and Maraganore, J. M. (1991). α -凝血酶的蛭素原和蛭素类似物 1 复合物的结构. 分子生物学杂志. 221,1379-1393(Structure of the hirugen and hirulog 1 complexes of alpha-thrombin. J. Mol. Biol. 221,1379-1393).
- [0338] Stone, S. R. and Tapparelli, C. (1995). 凝血酶抑制剂作为抗血栓试剂:迅速抑制的重要性. 酶抑制杂志. 9,3-15(Thrombin inhibitors as antithrombotic agents:the importance of rapid inhibition. J. Enzyme Inhib. 9,3-15).
- [0339] Vagin, A. and Teplyakov, A. (2000). 分子移位中的多拷贝搜索方法. Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 56,1622-1624(An approach to multi-copy search in molecular replacement. Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 56,1622-1624).
- [0340] Vindigni, A., Dang, Q. D., and Di Cera, E. (1997). 凝血酶的底物识别的位点特异性分离. 自然生物技术. 15,891-895(Site-specific dissection of substrate recognition by thrombin. Nat. Biotechnol. 15,891-895).
- [0341] Witting, J. I., Bourdon, P., Brezniak, D. V., Maraganore, J. M., and Fenton, J. W. (1992). 蛭素类似物-1 对凝血酶的特异性抑制和缓慢切割. 生化杂志. 283(Pt 3),737-743(Thrombin-specific inhibition by and slow cleavage of hirulog-1. Biochem. J. 283(Pt 3),737-743).
- [0342] Cho Yeow Koh, Maria Kazimirova, Adama Trimmell, Peter Takac, Milan Labuda, Patricia A. Nuttall, and R. Manjunatha Kini(2007) 生物化学杂志, 282(40)29101-29113(J. Biol. Chem, 282(40)29101-29113).
- [0343] 序列表
- [0344] SEQ ID NO :1(s-variegain)
- [0345] SDQGDVAEPKMHKTAPPFDFEAIPEEYLDDDES
- [0346] SEQ ID NO :2(varigein 切割产物)
- [0347] SDQGDVAEPK
- [0348] SEQ ID NO :3(MH22)
- [0349] MHKTAPPFDFEAIPEEYLDDDES
- [0350] SEQ ID NO :4(variegain E31H)
- [0351] SDQGDVAEPKMHKTAPPFDFEAIPEEYLDDHS
- [0352] SEQ ID NO :5(MH22A22E)
- [0353] MHKTAPPFDFEAIPEEYLDDDES
- [0354] SEQ ID NO :6(EP25)
- [0355] EPKMHKTAPPFDFEAIPEEYLDDDES
- [0356] SEQ ID NO :7(EP25A22E)

- [0357] EPKMHKTAPPDFEETPEEYLDDDES
- [0358] SEQ ID NO :8 (EP21)
- [0359] EPKMHKTAPPDFEETPEEYL
- [0360] SEQ ID NO :9 (MH18)
- [0361] MHKTAPPDFEETPEEYL
- [0362] SEQ ID NO :10 (DV24)
- [0363] DVAEPKMHKTAPPDFEETPEEYL
- [0364] SEQ ID NO :11 (DV24K10R)
- [0365] DVAEPRMHKTAPPDFEETPEEYL
- [0366] SEQ ID NO :12 (DV23K10R)
- [0367] DVAEPRMHKTAPPDFEETPEEYL
- [0368] SEQ ID NO :13 (DV23)
- [0369] DVAEPKMHKTAPPDFEETPEEYL
- [0370] SEQ ID NO :14 (蛭素类似物)
- [0371] DFPRPGGGNGDFEETPEEYL
- [0372] SEQ ID NO :15 (MH22A22E)
- [0373] MHKTAPPDFEETPEEYLDDDES
- [0374] SEQ ID NO :16 (DV24K10RYsulf)
- [0375] DVAEPRMHKTAPPDFEETPEEY*L (*Y 是硫酸化的)
- [0376] SEQ ID NO :17 (Hirullin-P18)
- [0377] VSYTDCTSGQNYCLCGGNFCGDKHCEMDGSENKCVDTGEGTPKRQTSGPSDFE
- [0378] EFSLDDIEQ
- [0379] SEQ ID NO :18 (蛭素变体 -1)
- [0380] VVYTDCTESGQNLCLCEGSNVCQGKNCILGSDGEKNQCVTGEGTPKPQSHND
- [0381] GDFEETPEEYLQ
- [0382] SEQ ID NO :19 (蛭素变体 -2)
- [0383] AICVSQAITYTDCTESGQNLCLCEGSNVCQGKNCILGSNGKGNQCVTGEGTPN
- [0384] PESHNGDFEETPEEYLQ
- [0385] SEQ ID NO :20 (蛭素 -3B')
- [0386] VVYTDCTESGQNLCLCQGSNVCQGKNCILGSNGEKNQCVTGEGTPKPQSHND
- [0387] GDFEETPEEYLQ
- [0388] SEQ ID NO :21 (蛭素 -3B)
- [0389] VVYTDCTESGQNLCLCQDSNVCQGKNCILGSNGEKNQCVTGEGTPKPQSHND
- [0390] GDFEETPEEYLQ
- [0391] SEQ ID NO :22 (蛭素 -3A')
- [0392] VVYTDCTESGEDLCLCEGSNVCGEKNCILGSDGEKNECVTGEGTPKPQSHND
- [0393] GDFEETPEEYLQ
- [0394] SEQ ID NO :23 (蛭素 -3A)
- [0395] VVYTDCTESGQNLCLCEDSNVCGEKNCILGSNGEKNQCVTGEGTPKPQSHND

- [0396] GDFEEIPEEYLQ
- [0397] SEQ ID NO :24 (蛭素)
- [0398] VVYTDCTESGQNLCLCEGSNVCQGKNCILGSDGEKNQCVTGEGTPGPQSHND
- [0399] GDFEEIPEEYL
- [0400] SEQ ID NO :25 (蛭素 -HM2)
- [0401] MFSLKLFVVFLAVCICVSQAVSYTDCTESGQNYCLCVGSNVCGEKNCQLSSSG
- [0402] NQCVHGEGTPKPKSQTEGDFEEIPDEDILN
- [0403] SEQ ID NO :26 (蛭素 -HM1)
- [0404] MFSLKLFVVFLAVCICVSQAVSYTDCTESGQNYCLCVGGNLCGGGKHCEMDGS
- [0405] GNKCVDGEGTPKPKSQTEGDFEEIPDEDILN
- [0406] SEQ ID NO :27 (蛭素 -3)
- [0407] VVYTDCTESGQNLCLCEDSNVCQGKNCILGSNGEKNQCVTGEGTPKPQSHND
- [0408] GDFEEIPEEYLQ
- [0409] SEQ ID NO :28 (蛭素 -2B)
- [0410] ITYTDCTESGQNLCLCEGSNVCQGKNCILGSNGEENQCVTGEGTPKPQSHNDG
- [0411] DFEEIPEEYLQ
- [0412] SEQ ID NO :29 (蛭素 -2')
- [0413] ITYTDCTESGQDLCLCEGSDVCGKGNKNCILGSNGEENQCVTGEGTPKPQSHNDG
- [0414] DFEEIPEEYLQ
- [0415] SEQ ID NO :30 (蛭素 -2)
- [0416] ITYTDCTESGQDLCLCEGSNVCQGKNCILGSNGEENQCVTGEGTPKPQSHNDG
- [0417] DFEEIPEEYLQ
- [0418] SEQ ID NO :31 (蛭素 -2A)
- [0419] ITYTDCTESGQNLCLCEGSNVCNGKNCILGSDGEENQCVTGEGTPKPQSHND
- [0420] GDFEEIPEEYLQ
- [0421] SEQ ID NO :32 (蛭素 -P6)
- [0422] MRYTACTESGQNCICEGNDVCGQGRNCQFDSSGKKCVEGEGTRKPQNEGQH
- [0423] DFDPIPEEYLS
- [0424] SEQ ID NO :33 (蛭素 -PA)
- [0425] ITYTDCTESGQNLCLCEGSNVCQGKNCILGSQGKDNQCVTGEGTPKPQSHNQG
- [0426] DFEEIPEDAYDE
- [0427] SEQ ID NO :34 (来自美国专利 US 5985833 的序列 25)
- [0428] NGDFEEIPEEYL
- [0429] SEQ ID NO :35 (来自美国专利 US 5985833 的序列 24)
- [0430] VEYEALYPEDD
- [0431] SEQ ID NO :36 (来自美国专利 US 5985833 的序列 23)
- [0432] EVEYEALYPEDD
- [0433] SEQ ID NO :37 (来自美国专利 US 5985833 的序列 22)
- [0434] AEVEYEALYPE

- [0435] SEQ ID NO :38 (来自美国专利 US 5985833 的序列 21)
[0436] AVEVEALYPED
[0437] SEQ ID NO :39 (来自美国专利 US 5985833 的序列 20)
[0438] AVEVEALYPEDD
[0439] SEQ ID NO :40 (来自美国专利 US 5985833 的序列 19)
[0440] EALYPEDDL
[0441] SEQ ID NO :41 (来自美国专利 US 5985833 的序列 3)
[0442] VSVEHEVDVEYP
[0443] SEQ ID NO :42 (来自美国专利 US 5985833 的序列 4)
[0444] VRVEHHVEIEYD
[0445] SEQ ID NO :43 (来自美国专利 US 5985833 的序列 5)
[0446] NGDFEEIPEEYLQ
[0447] SEQ ID NO :44 (来自美国专利 US 5985833 的序列 6)
[0448] FPRFPRP
[0449] SEQ ID NO :45 (来自美国专利 US 5985833 的序列 7)
[0450] QSHNDG
[0451] SEQ ID NO :46 (来自美国专利 US 5985833 的序列 9)
[0452] AVRPEHPAETEEYSLYPEDDL
[0453] SEQ ID NO :47 (来自美国专利 US 5985833 的序列 10)
[0454] PEHPAETEEY
[0455] SEQ ID NO :48 (来自美国专利 US 5985833 的序列 11)
[0456] EHPAETEEYSLYPEDDL
[0457] SEQ ID NO :49 (来自美国专利 US 5985833 的序列 12)
[0458] EHPAETEFESLYPEDDL
[0459] SEQ ID NO :50 (来自美国专利 US 5985833 的序列 13)
[0460] AETEEYSLYPEDDL
[0461] SEQ ID NO :51 (来自美国专利 US 5985833 的序列 14)
[0462] VRPEHPAEVEYEALYPEDDL
[0463] SEQ ID NO :52 (来自美国专利 US 5985833 的序列 15)
[0464] PEHPAEVEY
[0465] SEQ ID NO :53 (来自美国专利 US 5985833 的序列 16)
[0466] EHPAEVEYEALYPEDDL
[0467] SEQ ID NO :54 (来自美国专利 US 5985833 的序列 17)
[0468] AVEVEALYPEDDL
[0469] SEQ ID NO :55 (来自美国专利 US 5985833 的序列 18)
[0470] EYEALYPEDDL
[0471] SEQ ID NO :56 (来自美国专利 US 5985833 的序列 1)
[0472] AGDV
[0473] SEQ ID NO :57 (来自美国专利 US 5985833 的序列 2)

- [0474] VRPEHPAETEYESLYPEDDL
- [0475] SEQ ID NO :58 (推定的凝血酶抑制剂 [黑脚硬蜱 (*Ixodes scapularis*)])
- [0476] MHQEGDFKMGHCSDLKVSALIPYKGNKMSMVILLPEDVEGLSDLEEHLTAPK
- [0477] LLALLGGMYVTSDVNLHFPKFKLEQSMGLKDVLAMGVKDDFTFLADLSGISA
- [0478] TGNLCASDVIIKAFVEVN EEGTEAAAAATAILMDCIPQVNVFFVDHPFMFLICSH
- [0479] DPDAVLFMGSIREL
- [0480] SEQ ID NO :59 (推定的抑制剂 [黑脚硬蜱])
- [0481] MHQKGD FKMGCSDLKVTALIPYKGNKMSMIILLPEDVEGLSVLEEHLTAPKL
- [0482] SALLGGMYVTPDVNLRLPKFKLEQSIGLKDVLAMGVKDDFTSLADLSGISAAG
- [0483] NLCASDVIIKAFVEVN EEGTEAAAAATAIPMMLMCARFPQVNVFFVDHPFMFLIH
- [0484] SHDPDVVLFMGSIREL
- [0485] SEQ ID NO :60 (推定的凝血酶抑制剂 [黑脚硬蜱])
- [0486] MASDFSNSLISFSVDLYKKLKSESDGASN FICSPFSIAAALSMTLAGAKHDTAKQI
- [0487] SNALHMQDTTVHENFAYFFSKLPGYAPDVILHVNRLYAEETYNTLDEFTHLLE
- [0488] KSYSTTVEKVD FKRNAEKTRLQVNTWVEEVTQSKIKDLLAEGTIDDFTSIIINA
- [0489] VYFKGLWHDQFDPKRTSQQEFHLTADRTKMVDMMHKQRFMRHPNFKVS
- [0490] ALEIPYKGQKMSMVILLPEEIDGLADLEETLTSSKIREIIQELSYQGDIELSIPRFKL
- [0491] EHTVGLKNVLAAMGIEDMFDA LKCDLSGISPDNALVVS DVVHKAFIEVNEEGTE
- [0492] AAAATAMVMLCCMSFPTRFTVDHPFLFLIRCHDPDVILFIGSVAQI
- [0493] SEQ ID NO :61 (丝氨酸蛋白酶抑制剂 [多房棘球绦虫 (*Echinococcus multilocularis*)])
- [0494] MFAKTSFIPFTQALYAQLQPSEGRSNFFMSPLSVYSALS LALAGSESE TREELVSV
- [0495] LGLAPGKDIDTIVKSLGENLQAVADGDAKKT LVEANGVFIQAGSQIRETYTSAV
- [0496] SKHLKADMKQLDFGGDSEGSRI SINRWIAEKTREKVKDLLAQGSITPMTHVVLA
- [0497] NAVYFKGVWKCKFEKSKTDRSGVFHSLDSGDVRVSMMTQKASYPMADFVDLE
- [0498] VRALKVPFETHEMLIVLPEKNDGLPNLLKQLSANAKHLEEMLTSDQYFDTEVVL
- [0499] KLPKFSLGGHNMKLKEPLHKMGLKSAFDAERADFSGITNDRSLAVSDVYHQAV
- [0500] IDVDEEGAEAAAATAMPMMVRCMPAPPVDFFDHPFIFFI VTKTGIPVFMGHVV
- [0501] HPESK
- [0502] SEQ ID NO :62 (thrombostasin 前体 [厩刺蝇 (*Stomoxys calcitrans*)])
- [0503] MKYFVFIGIIALS AVSQAQNGRWQGD LHGLSGHRGSGLPGLSGHRGSGQPGLSG
- [0504] HRGSEQSGEAGAPSYDYFSQPGLSGSRRHGQRDLEVEDSRPARSLDPLNSVPEW
- [0505] NENDEDDHEFGPYRKPDNQRDRRRPQRSFDS
- [0506] FYSVPEWNEDNEADQGYRKRQDNQQRHRAQPQRPLHPHYSHPEWEEDEEGD
- [0507] QQFGRYRKPHDNQQDRRRGKAQPMRLHPFN SHPEWEDEDEGDQQFGPYRRP
- [0508] QDNQQRNRGESRPIRSNGDELSSDDQLASFFGFPAGDVPEDLKNLVRLFSGPNN
- [0509] DFGGNNQFEED
- [0510] SEQ ID NO :63 (抗凝血酶 -III)
- [0511] MISNGIGTVTAGKRSICLLPLLLIGLWGCVTCHRSPVEDVCTAKPRDIPVNP MCIY

- [0512] RSSEKKATEGQGSEQKIPGATNRRVWELSKANSHFATAFYQHLADSKNNNDNIF
- [0513] LSPLSISTAFAMTKLGACNNTLKLMEVFKFDITISEKTSQIHFFFAKLNCRLYR
- [0514] KANKSSELVSANRLFGGKSITFNETYQDISEVVYGAQLQPLDFKGNAEQSRLTIN
- [0515] QWISNKTEGRITDVIPPQAINFTVLVLVNTIYFKGLWKSFKSPENTRKELFYKA
- [0516] DGESCSVLMMYQESKFRYRRVAESTQVLELPFKGDDITMVLILPKLEKTLAKVE
- [0517] QELTPDMLQEWLDELTTLLVVHMPRFRIEDSFSVKEQLQDMGLEDLFSPEKSR
- [0518] LPGIVAEGRSPLYVSDAFHKAFLEVNEEGSEAAASTVISIAGRSLNSDRVTFKAN
- [0519] RPILVLIREVALNTIIFMGRVANPCVD
- [0520] SEQ ID NO :64 (α -1- 抗胰蛋白酶样蛋白 GS55-MS)
- [0521] MPSSISWGLLLLAGLSCLVAGSLAEDAQETGASKHDQEHASHRIAPNLAEFALS
- [0522] LYRVLAHESNTTNIFFSPVSIAMALASLSLGTKADTHTQIMEGLGFNLTTETAESDI
- [0523] HQGFQHLQLTNKPNSQLQLTTGNGLFIDHNLKLLDKFLQDVKNLYHSEAFSTD
- [0524] FTNTEEAKKQINTYVEKGTQGGKIVDLVKDLNRDSVLALVNYIFFKGKWEKPPFEV
- [0525] DHTKEEDFHVDQVTTVRVPMNRMGMFEVHYCSTLASWVLQMDYLGNATAI
- [0526] FLLPDEGKLQHLEDTTITKEILAKFLKNRESSSVNLHFPKLNISGTMDLKPVLTRLG
- [0527] ITNVFSYKADLSGITEDDPLRVSQALHKAVLTIDERGTEAAGATFLEMPMSLPP
- [0528] EVKFDKPFVLVIIHSTKSPLFVGKVVNPTLH
- [0529] SEQ ID NO :65 (未命名的蛋白产物 [智人 (Homo sapiens)])
- [0530] MLKKPLSAVTWLCIFIVAFVSHPAWLQKLSKHKTPAQPLKAANCCEEVKELK
- [0531] AQVANLSSLLSELNKKQERDWWVVMQVMELESNSKRME SRLTDAESKYSEM
- [0532] NNQIDIMQLQAAQTVTQTSADAIYDCSSLYQKNYRISGVYKLPPDDFLGSPELEV
- [0533] FCDMETSGGGWTIIQRRKSGLVSFYRDWKQYKQGFSGIRGDFWLGNHHRSLR
- [0534] QPTRLRVEMEDWEGNLYAEYSHFVLGNELNSYRLFLGNYTGNVGN DALQYH
- [0535] NNTAFSTKDKDNDNCLDKCAQLRKGGYWYNCCTDSNLNGVYYRLGEHNKHL
- [0536] DGITWYGWHGSTYSLKRVEMKIRPEDFKP
- [0537] SEQ ID NO :66 (神经丝氨酸蛋白酶抑制剂 [小鼠 (Mus musculus)])
- [0538] MTYLELLALLALQSVVTGATFPDETITEWSVNMYNHLRGTEG DENILFSPLSIAL
- [0539] AMGMELGAQGSTRKEIRHSMGYEGLKGGEFSFLRDFS NMASAEENQYVMK
- [0540] LANSLFVQNGFHVNEEFLQMLKMYFNAEVNHVDFSQNVAVANSINKWVENYT
- [0541] NSLLKDLVSPEDFDGVTNLALINAVYFKGNWKSQFRPENTRTFSFTKDDSEVQI
- [0542] PMMYQQGEFYGYGEFSDGSNEAGGIYQVLEIPYEGDEISMMLALSRQEVPLATLE
- [0543] PLLKAQLIEEWANSVKKQKVEVYLPRFTVEQEIDLKDILKALGVTEIFIKDANLT
- [0544] AMSDKKELFLSKAVHKSCIEVNEEGSEAAAASGMIAISRMAVLYPQVIVDHPFL
- [0545] YLIRNRKSGIILFMGRVMNPETMNTSGHDFEEL
- [0546] SEQ ID NO :67 (神经胶质 - 衍生的连接素)
- [0547] MNWHLPLFLLASVTLPISCSHFNPLSLEELGSNTGIQVFNQIVKSRPHDNIVISPHG
- [0548] IASVLGMLQLGADGRTKKQLAMVMRYGVNGVGKILKKINKAIVSKKNKDIVTV
- [0549] ANAVFVKNASEIEVPFVTRNKDVQCEVRNVNFEDPASACDSINAWVKNETRD
- [0550] MIDNLLSPDLIDGVLTRLVLVNAVYFKGLWKS RFQ PENTKKRTFVAADGKSYQ

- [0551] VPMLAQLSVFRCGSTSAPNDLWYNFIELPYHGESISMLIALPTESSTPLSAIIPHIST
[0552] KTIDSWSIMVPKRVQVILPKFTAVAQTDLKEPLKVLGITDMFDSSKANFAKITTT
[0553] GSENLHVSHILQKAKIEVSEDGTKASAATTAILIARSSPPWFIVDRPFLFFIRHNPT
[0554] GAVLFMGQINKP
[0555] SEQ ID NO :68 (神经胶质 - 衍生的连接素)
[0556] MNWHFPFFILTTVTLYSVHSQFNLSLEELGSNTGIQVFNQIIKSRPHENVVSPH
[0557] GIASILGMLQLGADGKTKKQLSTVMRYNVNGVGKVLKKINKAIVSKKNKDIVT
[0558] VANAVFLRNGFKMEVPPFAVRNKDVFQCEVQNVNFQDPASASESINFWVKNETR
[0559] GMIDNLLSPNLDGALTRLVLVNAVYFKGLWKS RFQPESTKKRTFVAGDGKSY
[0560] QVPMLAQLSVFRSGSTRTPNGLWYNFIELPYHGESISMLIALPTESSTPLSAIIPHIT
[0561] TKTIDSWMNTMVPKRMQLVLPKFTAVAQTDLKEPLKALGITEMFEPSCANFTKI
[0562] TRSESLHVSHILQKAKIEVSEDGTKASAATTAILIARSSPPWFIVDRPFLFSIRHNP
[0563] TGAILFLGQVKNP
[0564] SEQ ID NO :69 (神经丝氨酸蛋白酶抑制剂)
[0565] MAYLGLLSLVALQSLVTGAAFPDETIAEWSVNVYNHLRATGEDENILFSPLSIAL
[0566] AMGVMELGAQGSLTKEIRHSMGYESLKS GEEFSFLRDFSSMVSAEEGQYVMKI
[0567] ANSLFVQNGFHI NEEF LQMMKMYFNAEVNHVDFSENVAVANYINKWVENYTN
[0568] SLLKDLVSPGDFDAVTHLALINAVYFKGNWKSQFRPENTRTFSFTKDDSEVQIP
[0569] MMYQQGEFYFGEFSDGSNEAGGIYQVLEIPYEGDEISMMLVLSRQEVPLATLEP
[0570] LLKPQLIEEWANSVKKQKVEVYLPRFTVEQEIDLKDKALGVTEIFIKDANLTA
[0571] MSDKKELFLSKAVHKS FIEVNEEGSEAAVASGMIAISRMAVLFPQVIVDHPFLFLI
[0572] KNRKTGTILFMGRVMHPETMNTSGHDFEEL
[0573] SEQ ID NO :70 (丝氨酸蛋白酶抑制剂肽酶抑制剂, 进化枝 C, 成员 1 [智人])
[0574] MYSNVIGTVTSGKRKVYLLSLLLIGFWDCVTCHGSPVDICTAKPRDIPMNPICIY
[0575] RSPEKKATEDEGSEQKIPEATNRVWELSKANSRFATTFYQHLADSKNDNDNIF
[0576] LSPLSISTAFAMTKLGACNDTLQQLM EVFKFDTISEKTS DQIHFFFAKLNCRLYR
[0577] KANKSSKLV SANRLF GDKSLTFNETYQDI SELVYGAKLQPLDFKENAEQSRAAI
[0578] NKWVSNKTEGRITDVIPSEAINELTVLVLVNTIYFKGLWKS KFS PENTRKELFYK
[0579] ADGESCSASMMYQEGKFRYRRVAEGTQVLELPFKGDDITMVLILPKPEKSLAKV
[0580] EKELTPEVLQEWLDELEEMMLVVMHPRFRIEDGFSLKEQLQDMGLVDLFSPEKS
[0581] KLPGIVAEGRDDLYVSDAFHKAFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGRSLNPNRVTFK
[0582] ANRPFLVFIREVPLNTIIFMGRVANPCVK
[0583] SEQ ID NO :71 (肝素辅因子 II [非洲爪蟾 (*Xenopus laevis*)])
[0584] MKLLHLATIFLLIHATLGGVKDLQEHFEDTSTGINPRGSQTQAVENLLDDTVTN
[0585] DLSTEGEDEEDYLD FDKIFGEDEYIDII DAAP EIKNSETQQGNIFELFHGKTRVQ
[0586] RLNIINANFGFNLYRAIKNNTDASENILLAPVGISTAMATISLGTKGQTLEQVLLT
[0587] LGFKDFLNASSKYEILTLHNVFRKLTHRLFRRNFGYTLRSVNDIYVKRDFLIREPF
[0588] KNNLKNYF AEATVDFGYKDFLTKANKRIQQ LTKGLIEEALTNDVPALLMLL
[0589] VNCIYFKGTWENKFPVEYTNMNFRLNEKELVKVPMMKTKGNFLVAADPELD

- [0590] CAVLQLPYVGNISMLIVLPHKLSGMKLEKQISPQVVERWQNIMTNRTREVFLP
[0591] RFKLEKSYDLQKVLSNMGATDLFTHGDFSGVSDKDINIGLFQHQGTITVNEEGT
[0592] EAAAVTVVGFMPPLSTQARFVADRPFLFLIYEHRTNCLVFMGRVANPTKS
[0593] SEQ ID NO :72 (肝素辅因子 II [红原鸡 (Gallus gallus)])
[0594] GTFCGIKDFSDHFESLKDAHTHENGTYNMPDLPLEFHRENTITNDLIPEEEEEED
[0595] YLDLDKILGEDDYSDIIDAAPHIVSEIQQGNILELFQGGKTRIQRNLILNANFGFNLY
[0596] RSVADKANSSDNILMAPVGISTAMAMISLGLKGQTQQEVLSVLGFEDFINASAK
[0597] YELMTVHNLFRLKTHRLFRRNFGYTLRSVNDLYIRKDFSILNDFRNMKTYFYA
[0598] DAQPADFSDPNFITKTNERILKLTGGLIKEALVNVNPTTLMMLNCLYFKGTWEN
[0599] KFPVEMTTKRSFRLNEKQTIKVPMMQTKGNFLAAA PELDCGVIQLPFVGNISM
[0600] LIVLPHKLSGMKALEKQITPQVVEKWQKSMNTNRTREVVLPKFKLEKNYNLIGFL
[0601] RSMGIEELFSEKGNVCGVSEEKVSIDRFNHQGTITVNEEGTEAGAITNVGFMPPLS
[0602] TQIRFIVDRPFLFLIYEHRTNCLLFMGRVVNPAKP
[0603] SEQ ID NO :73 (肝素辅因子 2)
[0604] MQHRPHLLLISLTIMSVCGGSNGLTDQLNKNLTMPLLPIEFHKENTVTNDWIPE
[0605] GEEDDDYLDLEKLLSEDDDYIDIIDAVSPTDSEASAGNQLFQGGKSRIQRNLILN
[0606] AKFAFSLYRALKDQANAFDNIFIAPVGISTAMGMISLGLKGETHEQVHSLHFR
[0607] DFNASSKYEILTIHNLFRKLTHRLFRRNFGYTLRSVNDLYVQKQFPIREDFKAK
[0608] VREYYFAEAQAADFSDPAFISKANNHILKVTGGLIKEALENDPATQMMILNCI
[0609] YFKGTWVNKFPVEMTHNHNFRNLNREVVKVSMMQTKGNFLAANDQELACDV
[0610] LQLEYVGGISMLIVVPHKLSGMKTLEAQLTPQVVERWQKSMNTNRTREVLLPKF
[0611] KLEKNYNLVEALKSMGVTELFDKNGNMSGISDQGITMDLFKHQGTITVNEEGT
[0612] QAAAVTTVGFMPPLSTQVRFTVDRPFLFLVYEHRTSCLLFMGKVANPVRS
[0613] SEQ ID NO :74 (丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制剂, 进化支 D, 成员 1 前体 [小鼠])
[0614] MKHPLCTLLSLITFMCIGSKGLAEQLTNENLTTSFLPANFHKENTVTNDWIPEGE
[0615] EDEDYLDLEKLLGEDDDYIYIIDAVSPTDSESSAGNQLFQGGKSRIQRNLILNAK
[0616] FAFNLYRVLKDQATSDNLFIAIPVGISTAMGMISLGLRGETHEEVHSLHFRDFV
[0617] NASSKYEVTTHNLFRKLTHRLFRRNFGYTLRSVNGLYIQKQFPIREDFKAAMRE
[0618] FYFAEAQEANFPDPAFISKANNHILKLTGGLIKEALENIDPATQMLILNCIYFKGT
[0619] WVNKFPVEMTHNHNFRNLNREVVKVSMMQTKGNFLAANDQELDCDILQLEYV
[0620] GGISMLIVVPRKLSGMKTLEAQLTPQVVERWQKSMNTNRTREVLLPKFKLEKNY
[0621] NLVEVLKSMGITKLFNKNNGNMSGISDQRIADLFKHQSTITVNEEGTQAAAVTTV
[0622] GFMPPLSTQVRFTVDRPFLFLVYEHRTSCLLFMGKVTNPAKS
[0623] SEQ ID NO :75 (肝素辅因子 2)
[0624] MKHPAYTLLLSLIMSMCAGSKGLAEQLTKENLTVSLLPPNFHKENTVTNDWIPE
[0625] GEEDDDYLDLEKLLSEDDDYIYVVDVAVSPTDSESSAGNQLFQGGKSRIQRNLIL
[0626] NAKFAFNLYRVLKDQATSSDNIFIAPVGISTAMGMISLGLRGETHEEVHSLHFK
[0627] DFNASSKYEVTTHNLFRKLTHRLFRRNFGYTLQSVNDLYIQKQFPIREDFKAA

- [0628] MREFYFAEAQEADFSDFPAFISKANSHILKLTGGLIKEALENTDSATQMMILNCIY
- [0629] FKGAWMNKFPVEMTHNHNFRNLNEREVVKVSMQTKGNFLAANDQELDCDIL
- [0630] QLEYVGGISMLIVIPRKLSGMKTLEAQLTPQVVERWQKSMTNRTREVLLPKFKL
- [0631] EKNYNLVEVLKSMGITKLFNKNGMSGISDQRIIIDLFKHQSTITVNEEGTQAAA
- [0632] VTTVGFMPLSTQVRFTVDRPFLFLVYEHRTSCLLFMGRVANPAKS
- [0633] SEQ ID NO :76 (丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制剂, 进化支 D, (肝素辅因子), 成员 1 [斑马鱼 (Danio rerio)])
- [0634] MWLVPIVIVVACLLNSPALAGVKDLSSHFTLEKEKTVDARGLSPGGENTDMESI
- [0635] PLDFHRENTVTNDLPEGQDDEDYVDFDKILGEDDYSEGHDIDEISTPAPDLDFY
- [0636] EPSDPKIRRARLLRLFHGQTRLQRINVVNARFGFRLYRKLRNRLNQTDNILLAPV
- [0637] GISIAMGMMGLGVGPNTQEQLFQTVGFAEFVNASNHYDNSTVHKLFRKLTHRL
- [0638] FRRNFGYTLRSVNDLYVKRNVQIQDSFRADAKTYFFAEPQSVDFAFLVKA
- [0639] NQRIQKITKGLIKEPLKSVDPMMAVMLLNLYFKGTWEQKFPKELTHHRQFRV
- [0640] NEKKQVRVLMQNKGSYLAADHELNCIDILQLPYAGNISMLIAPVQKLSGMRS
- [0641] LEQEISPTLVNKLWLSNMTNRTREVVFPRFKLEQNYDLIEHLKEMGMTDIFTEKG
- [0642] DFSPMTSEKVIINWFKHQGSITVNEEGTEAAAMTHIGFMPLSTQTRFIVDRPFLFL
- [0643] IYEHRTGCVVFMGRVVDPSQT
- [0644] SEQ ID NO :77 (丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制剂, 进化支 D, (肝素辅因子), 成员 1 [斑马鱼])
- [0645] MWLVPIVIVVACLLNSPALAGVKDLSSHFTLEKEKTVDARGLSPGGENTDMESI
- [0646] PLDFHRENTVTNDLPEGQDDEDYVDFDKILGEDDYSEGHDIDEISTPAPDLDFY
- [0647] EPSDPKIRRARLLRLFHGQTRLQRINVVNARFGFRLYRKLRNRLNQTDNILLAPV
- [0648] GISIAMGMMGLGVGPNTQEQLFQTVGFAEFVNASNHYDNSTVHKLFRKLTHRL
- [0649] FRRNFGYTLRSVNDLYVKRNVQIQDSFRADAKTYFFAEPQSVDFAFLVKA
- [0650] NQRIQKITKGLIKEPLKSVDPMMAVMLLNLYFKGTWEQKFPKELTHHRQFRV
- [0651] NEKKQVRVLMQNKGSYLAADHELNCIDILQLPYAGNISMLIAPVQKLSGMRS
- [0652] LEQEISPTLVNKLWLSNMTNRTREVVFPRFKLEQNYDLIEHLKEMGMTDIFTEKG
- [0653] DFSPMTSEKVIINWFKHQGSITVNEEGTEAAAMTHIGFMPLSTQTRFIVDRPFLFL
- [0654] IYEHRTGCVVFMGRVVDPSQS
- [0655] SEQ ID NO :78 (丝氨酸蛋白酶抑制剂肽酶抑制剂, 进化支 D, (肝素辅因子), 成员 1 [合成构建体])
- [0656] MWMLQRGVDQPGRLSLCSVFPPSFSSAKMKHSLNALLIFLIITSAWGGSKGPLD
- [0657] QLEKGGETAQSDPQWEQLNNKNLSMPLLPADFHKENTVTNDWIPEGEEDDDY
- [0658] LDLEKIFSEDDDYIDIVDSLVSPTSDSVSAGNILQLFHGKSRIQRLNILNAKFAFN
- [0659] LYRVLKDQVNTFDNIFIAPVGISTAMGMISLGLKGETHEQVHSILHFKDFVNASS
- [0660] KYEITTIHNLFRKLTHRLFRRNFGYTLRSVNDLYIQKQFPILLDFKTKVREYYFAE
- [0661] AQIADFSDFPAFISKTNNHIMKLTGGLIKDALENIDPATQMMILNCIYFKGSWVNK
- [0662] FVEMTHNHNFRNLNEREVVKVSMQTKGNFLAANDQELDCDILQLEYVGGISM
- [0663] LIVVPHKMSGMKTLEAQLTPRVVERWQKSMTNRTREVLLPKFKLEKNYNLVS

- [0664] LKLMGIRMLFDKNGNMAGISDQRIADLFDKHQGTITVNEEGTQATTVTTVGFMP
- [0665] LSTQVRFTVDRPFLFLIYEHRTSCLLFMGRVANPSRS
- [0666] SEQ ID NO :79 (丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制剂, 进化支 D, (肝素辅因子), 成员 1 [斑马鱼])
- [0667] MWLVPVIVVACLLNSPALAGVKDLSSHFTLEKEKTVDAAGLSPGGENTDMESI
- [0668] PLDFHRENTVTNDLPEGQDDEYVDFDKILGEDDYSEGHDIDEISTPAPDLDLFY
- [0669] EPSPDKIRRARLLRLFHGQTRLQRINVVNARFGFRLYRKLNRNLNQTDNILLAPV
- [0670] GISIAMGMMGLGVGPNTQEQLFQTVGFAEFVNASNHYDNSTVHKLFRKLTHRL
- [0671] FRRNFGYTLRSVNDLYVKRNVQIQDSFRADAKTYFFAEPQSVDFAFLVKA
- [0672] NQRIQKITKGLIKEPLKSVDPNMAVMLLNLYFKGTWEQKFPKELTHHRQFRV
- [0673] NEKKQVRVLMQNKGSYLAADHELNCIDLQPYAGNISMLIAPVQKLSGMRS
- [0674] LEQEISPTLVNKLWLSNMTNRTREVVPFRFKLEQNYDLIEHLKEMGMTDIFTEKG
- [0675] DFSPMTSEKVIINWFKHQGSITVNEEGTEAAAMTHIGFMPLSTQTRFIVDRPFPFL
- [0676] IYEHRTGCVVFMGRVVDPSQT
- [0677] SEQ ID NO :80 (丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6)
- [0678] MDVLAEANGTFALNLLKTLGKDNSKNVFFSPMSMSCALAMVYMGAKGNTAA
- [0679] QMAQILSFNKSGGGDIHQGFQSLLEVNKTGTQYLLRMANRLFGEKSCDFLSS
- [0680] FRDSCQKFYQAEMEELDFISAVEKSRKHINTWVAEKTEGKIAELLSPGSVDPLTR
- [0681] LVLVNAVYFRGNWDEQFDKENTEERLFKVSKEEKPVMFMFKQSTFKKTYIGE
- [0682] IFTQILVLPYVGKELNMIIMLPDETDLRTVEKELTYEKFVEWTRLDMMDEEEV
- [0683] EVSLPRFKLEESYDMESVLRNLGMTDAFELGKADFSGMSQTDLSLSKVHKSFFV
- [0684] EVNEEGTEAAAATAAIMMRCARFVPRFCADHPFLFFIQHKTNGILFCGRFSSP
- [0685] SEQ ID NO :81 (凝血酶抑制剂 [智人])
- [0686] MDVLAEANGTFALNLLKTLGKDNSKNVFFSPMSMSCALAMVYMGAKGNTAA
- [0687] QMAQILSFNKSGGGDIHQGFQSLLEVNKTGTQYLLRVANRLFGEKSCDFLSS
- [0688] FRDSCQKFYQAEMEELDFISAVEKSRKHINTWVAEKTEGKIAELLSPGSVDPLTR
- [0689] LVLVNAVYFRGNWDGQFDKENTEERLFKVSKEEKPVMFMFKQSTFKKTYIGE
- [0690] IFTQILVLPYVGKELNMIIMLPDETDLRTVEKELTYEKFVEWTRLDMMDEEEV
- [0691] EVSLPRFKLEESYDMESVLRNLGMTDAFELGKADFSGMSQTDLSLSKVHKSFFV
- [0692] EVNEEGTEAAAATAAIMMRCARFVPRFCADHPFLFFIQHKTNGILFCGRFSSP
- [0693] SEQ ID NO :82 (丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6)
- [0694] MDVLAEANGTFALNLLKTLGKDNSKNVFFSPMSMSCALAMVYMGAKGNTAA
- [0695] QMAQVLSFNKSGGGDIHQGFQSLLEVNKTGTQYLLRTANRLFGEKSCDFLSS
- [0696] FRDSCQKFYQAEMEELDFISAVEKSRKHINSWVAEKTEGKIAELLSPGSVDPLTR
- [0697] LVLVNAVYFKGNWNEQFDKENTEERRFKVSKEEKPVMFMQSTFRKTYIG
- [0698] EIFTQILVLPYVGKELNMIIMLPDETDLRTVEKELTYEKFVEWTRLDMMDEEK
- [0699] VEVSLPRFKLEESYDMESVLCSLGMTDAFELGKADFSGMSKADLCLSKVVHKS
- [0700] FVEVNEEGTEAAAATAAIMMRCARFVPRFCADHPFLFFIQHKTNGVLFGRFSSP
- [0701] SSP

[0702] SEQ ID NO :83 (类似于胎盘凝血酶抑制剂 (细胞质抗蛋白酶) (CAP) (蛋白酶抑制剂 6) (PI-6) (丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6) 同种型 2 [狗 (Canis familiaris)])

[0703] MDTLSEANGTFAISLLKKLGEDGSKNVFFSPMSISSALSMVFMGAKGNTAAQMS

[0704] QTLSSLKSGGGDVHQGFQALLNEVNSAEARYLLRTANRLFGEKTCGFLSSFKD

[0705] SCRTFYQAEMEELDFLSACEQSREHITAGVTEGRKVKTRGKIVDLLSPGSDPGT

[0706] NLILVNAYFYFKGNWDKQFNKEQTTERPFKVSKEKKPVQMMFKKSTF

[0707] QMTYIGEIFTKILVLPYVGRELNMIIMLPDENVSLETVETELTYEKFTEWTRPDM

[0708] LDEEEVEVFLPRFKLEEEYDMKAVLCSLGMTDAFEQSKADFSGMSSRGDLILS

[0709] KVVHKSFEVNEEGTEAAAAASAAMMLRCARIVPRFCADRPFLFFIQHSKSRVS

[0710] LFCGRFSSP

[0711] SEQ ID NO :84 (类似于胎盘凝血酶抑制剂 (细胞质抗蛋白酶) (CAP) (蛋白酶抑制剂 6) (PI-6) (丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6) 同种型 3 [狗])

[0712] MDTLSEANGTFAISLLKKLGEDGSKNVFFSPMSISSALSMVFMGAKGNTAAQMS

[0713] QTLSSLKSGGGDVHQGFQALLNEVNSAEARYLLRTANRLFGEKTCGFLSVSPL

[0714] SPARKIVDLLSPGSDPGTNLILVNAIYFKGNWDKQFNKEQTTERPFKVSKEK

[0715] KPVQMMFKKSTFQMTYIGEIFTKILVLPYVGRELNMIIMLPDENVSLETVETELT

[0716] YEKFTEWTRPDMLEEEVEVFLPRFKLEEEYDMKAVLCSLGMTDAFEQSKADF

[0717] SGMSSRGDLILSKVVHKSFEVNEEGTEAAAAASAAMMLRCARIVPRFCADRP

[0718] FLFFIQHSKSRSVLFCGRFSSP

[0719] SEQ ID NO :85 (类似于丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6 (胎盘凝血酶抑制剂) (细胞质抗蛋白酶) (CAP) (蛋白酶抑制剂 6) (PI-6) 同种型 1 [Equus caballus])

[0720] MDTLSEANGTFALNLLKKLGEDNSKNVFFSPMSISSALAMVFMGAKGNTAAQM

[0721] SQVLSLSKSGGEVGDVHQGFQSLSEINRPGTQYLLRTANRLFGEKSYDFLSSFK

[0722] DSCHKFYQAEMEQLDFISATEESRKHINTWVAKKTEGKITELLSSDSVDLLTKLI

[0723] LVNAIYFKGNWDDQFDKQQTAKERPFKVSKEEKPQMMFKKSTFKRTYIGEIFT

[0724] QILMLPYVGEELNMIIMLPDENTDLKTVEKELTYEKFVEWTRPDMDETEMEV

[0725] FLPRFKLEEDYDMEAVLRSLGMTDAFEQARADFSGMSSRADLFLSKVVHKSFV

[0726] EVNEEGTEAAAAATAAMMMRCVRIIPRFCADHPFLFFIQHSKTNSILFCGRFSSP

[0727] SEQ ID NO :86 (丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6)

[0728] MDPLQEANGTFALNLLKILGEDSSKNVFLSPMSISSALAMVFMGAKGTASQM

[0729] AQALALDKCSGNGGDDVHQGFQSLTEVNKTGTQYLLRTANRLFQDKTCDLL

[0730] ASFKDCLKFYEAEELELDFQGATEESRQHINTWVAKKTEDKIKEVLSPGTVNS

[0731] DTSLVLVNAIYFKGNWEKQFNKEHTREMPFKVSKEEKPQMMFKKSTFKMT

[0732] YIGEIFTKILLPYVSSELNMIIMLPDEHVELSTVEKEVTYEKFIEWTRLDKMDEE

[0733] EVEVFLPKFKLEENYNMNDALYKLGMTDAFGGRADFSGMSSKQGLFLSKVVH

[0734] KAFVEVNEEGTEAAAAATAGMMTVRCMRFTPRFCADHPFLFFIHHVKTNGILFCG

[0735] RFSSP

[0736] SEQ ID NO :87 (类似于凝血酶抑制剂同种型 2 [黄牛 (Bos taurus)])

[0737] MEELDFLSATEESRKHINTWVAEKTEGKIRDLLPANSVNAMTRLVLVNAIYFKG

- [0738] NWD TQFNKEHTKERPFRVSKNMEKPVQMMFKKSTFKSTYIGEISTQILVLPYVG
- [0739] KELNMVILLPSESTDLNTVEKALTYEKFTVTWTKLDVMEDEVEVFLPRFTLEES
- [0740] YDMECVLRDLGVTDAFEAAQADFSGMSQQLHLSKIVHKSFVEVTEEGTEAA
- [0741] AATVARITPRILRIVPRFCADHPFLFFIQHSRTGAILFCGRFCSP
- [0742] SEQ ID NO :88 (凝血酶抑制剂 [黄牛])
- [0743] MDALSEANGTFALTLLKKLGEGNSKNVFISPLSISSALAMVLLGAKGNTAAQMC
- [0744] QTLSLNKSSGGGEDVHQGFQNLSEVNRRTQYLLRTANRLFGEKTYDFLSSFK
- [0745] DSCHKFYQAEMEELDFVSATEQSRKHINTWVAEKTEGKIRDLLPANSVNPMTL
- [0746] VLVNAIYFKGNWDTQFNKEHTEERPFRVSKNVEKPVQMMFKKSTCKITYIGEIS
- [0747] TQILVLPYVGQELNMVILLPSESTDLNTVEKALTYEKFIATKPDVMDDEEEVEV
- [0748] FLPRFTLEESYDMEEFLQELGMTDAFEETRADFSGSSGRGLHLSKVMHKSFVE
- [0749] VTEEGTEAAAATGAVVMMRCLMVVPRFNANHPFLFFIQHSKTGAILFCGRFCSP
- [0750] SEQ ID NO :89 (类似于凝血酶抑制剂 [灰色短尾负鼠 (*Monodelphis domestica*)])
- [0751] MVMNFPITFEPNILLSGSQVYKRWCVMPALSEANNTFALNFFKKIGEESEENV
- [0752] FYSPLSLYYALTMVLEGATGETAEQIQQVLSLSKNTDVHQSFQSFLAEVNKTGA
- [0753] PPLLRVANALFGEKTCGFLSPFKESCQKFYFSNVEELDFAHMPEAARKHINDWV
- [0754] EEKTEGKISELLANDSVDVMTNLVLVNAIYFNGKWEKPFDAKAKTAEKMFNISEK
- [0755] KQKPVQMMYQRSTFSMTFIEDIPTQILVLPYAGGHMDMVILLPVENKHLKMLK
- [0756] KRLTSENLDWINPEMMNEIEVEVFLPKFILAHLDEVEILQKLGMLDAFDKTK
- [0757] ADFSKMSARNDLCLSKVIHKAYVEVNEEGTVAVSSAAVMMTRSERMSLEFKA
- [0758] DHPFIFYLIEKQTNKIVFIGEVTSP
- [0759] SEQ ID NO :90 (类似于胎盘凝血酶抑制剂 (蛋白酶抑制剂 6) (PI-6) (丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6) [褐家鼠 (*Rattus norvegicus*)])
- [0760] METLNVRRIQILTRSSPDDFGMLSIKITSGEMLKDLESLRLAFWDSKKVSILLSVS
- [0761] DEIVQLTIMDPLLKANGNFAIKLFKVLGEDISKNVFFSLPSISSALSMILMGANGT
- [0762] TASQICQAMSLDKCNSIGGGDVHQHFLSLLTKVNKTDTRCMLRKANSVFIEDSF
- [0763] EILASFKDACHKLYEAEIEELDFKGAPEQSRQHINTWVAKKTEDIRELLPPCTVN
- [0764] SNTCLFLVNVIYFKGSLEKPFNKADTREMPFKVSMVTTVHLLNERKSVMYFYKI
- [0765] STFKMTYVEEVSTKILLLLYVSIELTMIMLFSPRGWKHEIVGGCANCLDARDRN
- [0766] KAQIEEWACALRHLPAASGVKWDACPEVEIMDSFHMKFSSELHFGLDFSLLCG
- [0767] WTESFVVLISKRYASEKQVSKPLFS
- [0768] SEQ ID NO :91 (类似于丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6 (胎盘凝血酶抑制剂) (细胞质抗蛋白酶) (CAP) (蛋白酶抑制剂 6) (PI-6) [猕猴 (*Macaca mulatta*)])
- [0769] MAAGKASGESEEAASPLTAEEREALGGLDRWRQDEGPTGQKAAASRSADTVS
- [0770] PAGAALAPGPAAGSALIVAADDGRGASGKLFPASALPPPTVNGRVSGAGPFLEP
- [0771] GQHSVSLEAPETRRWGPELVKAKASGQGGVDPRVPPRLSQCSGPGTPPASPRVF
- [0772] EVRGGSGVSTRRSTRSPWPVGKAGGASVCGGRGSGAGQRAAGPGTRVGQRRRA
- [0773] GTREPREWGVAARGCDPRRPSRAGARASVRLGFPSPGASQLRRTATRPVGRAWP

- [0774] RARPVTPLTRGPRAHRPSAHGRGGRRGMGAAQSLPGHRSAIMDVLAENGTF A
- [0775] LNLKLTGLKDNSKNVFFSPMSM SCALAMVYMGAKGNTAAQMAQVLSFNKSG
- [0776] GGGDIHQGFQSLLTEVNKTGTQYLLRTANRLFGEKSCDFLSSFRDSCQKFYQAE
- [0777] MEELDFISAVEKSRKHINSWVAEKTEGENVLLSTRNSI
- [0778] SEQ ID NO :92 (类似于丝氨酸蛋白酶抑制剂 B6 (胎盘凝血酶抑制剂) (细胞质抗蛋白酶) (CAP) (蛋白酶抑制剂 6) (PI-6) [猕猴])
- [0779] MAKAHYRFLTENSQAVAVFTRIEIGRFAHIRKSRGLRDPPRPPAQAPAGLTVM D
- [0780] ALSENGTGFALNLLKKLGGENSPNLKILFGNWQGPNEKPVQMMFKKSTFQMT
- [0781] YAKEILNKILVLSYVGKELNMLPDENTDLKMLMSVEKELSYERLIEWTKPDNM
- [0782] HEREMEVFLPRFKLEETYNMEDVLRSDMVDALQDRADLKDYLSKVMHKS
- [0783] FVEVNEEGTEAAAATTEEIVLCCASYSLRFCADHPFLFFIQHNKTNGILFCCRFS S
- [0784] P
- [0785] SEQ ID NO :93 (类似于凝血酶抑制剂 [黄牛])
- [0786] MDALSEANGTFALTLLKKLGEGNSKNVLIAPLSISSALAMVLLGARGNTAAQM
- [0787] CQTLNLSKSSGGGEDVHQGFQNLCEVNRTDTRYLLRTANRLFGEKTYNFLSS F
- [0788] KDSCRKFYQAEMEELDFVCATEESRKHINTWVAEKTEGKIRDLLSANSVYPMT
- [0789] CLVLVNAIYFKGNWDKQFYKVHTKERPFQVSKVNKTVMFMRKSTFKMTY
- [0790] IAEICTQILVLPYVGQELNMVILLPRERTDLNTEKALTYEKFVVTWKPDMLAE E
- [0791] EVEVFLPRFTLEESYDMECVLRDLGMTDGFNMARADFIGLSCQPGLHLSKVVH
- [0792] KPFVEVTEEGTEAVAASEARIRGLSLRTVPRFCANRPFLFFIQHSSTGAILFCGR F
- [0793] CSP
- [0794] SEQ ID NO :94 (类似于凝血酶抑制剂 [Bos taurus])
- [0795] MDALSEANGTFALTLLKKLGEGSSKNVLIAPLSISSALAMVLLGARGNTAAQM C
- [0796] QTLNLSKSSGGGEDVHQDFQNLSEVNRTDTQYLLRTANRLFGEKPYDFLSSFK
- [0797] NACHIFYQAEMEELDFVSATEEPTKHINTWVAEKTEGKIRDLLPANSVNPMT RL
- [0798] VLVSAYVFKGNWAKPFLKGRTMEGIFNVCKNVQKRALMIYNWSTFKTACIAE I
- [0799] CSQILVLPYVGQELNMVILLPFESTDLITVEKALTYEKFVTWKPDVLAEEVEVE V
- [0800] FLPCFTLEESYDMECVLRDLGMTDAFNAARADFSGMSCQPGLHLSKVMHKSFL
- [0801] EVTEEGTEAVAASEARIRRS LGVVHFFYANRPFLFFIQHSRTGAILFCGRFCSP
- [0802] SEQ ID NO :95 (α -1-抗胰蛋白酶 1-2)
- [0803] MTPSISWGLLLLGLCCMVPSFLAEDVQETDTSQKDQSPASHEIATNLGDFAI SL
- [0804] YRELVHQSNTSNIFFSPVSIATAFAMLSLGSKGDTHQTILEGLQFNLTQTSEADI H
- [0805] KSFQHLLQTLNRPDSELQLSTGNGLFVNNDLKLVEKFLEEAKNHYQAEVFSVNF
- [0806] AESEEAKKVINDFVEKGTQGGKIVEAVKELDQDTV FALANYILFKGKWKPPFDPE
- [0807] NTEAEFHV DKSSTTVKVPMMMLSGMLDVHHC SILSSWVLLMDYAGNASAVFL
- [0808] LPEDGKMQHLEQTLNKE LISKILLNRRRRLVQIHIPRLSISGDYNLKTLMSP LGIT
- [0809] RIFNNGADLSGITEENAPLKLKSAVHKAVLTIDETGTEAAAATVFEAVPMSMPPI
- [0810] LRFDHPFLFIIFEEHTQSPIFVGKVVDPTHK
- [0811] SEQ ID NO :96 (α -1-抗胰蛋白酶 1-1)

- [0812] MTPSISWGLLLLGLCCLVPSFLAEDVQETDTSQKQSPASHEIATNLGDFAI SL
[0813] YRELVHQSNSTSNIFFSPVSIATAFAMLSLGSKGDTHTQILEGLQFNLTQTSEADIH
[0814] KSFQHLLQTLNRPDSELQLSTGNGLFVNNDLKLVEKFLEEAKNHYQAEVFSVNF
[0815] AESEEAKKVINDFVEKGTQGKIAEAVKKLDQD TVFALANYILFKGKWKPPDPE
[0816] NTEAEFHVDESTTVKVPMMTLSGMLHVHHCSTLSSWVLLMDYAGNATAVFL
[0817] LPDDGKMQHLEQTL SKELISKFLLNRRRLAQIHFPRLSISGEYNLKTLMSP LGIT
[0818] RIFNNGADLSGITEENAPLKLSQAVHKAVLTIDETGTEAAAVTVLQMPMSMP
[0819] ILRFDHPFLFIIFEEHTQSPIFLGKVVDPTHK
[0820] SEQ ID NO :97 (α -1- 抗蛋白酶)
[0821] MTPSISWGLLLLGLFCLVPSFLAEDVQETDTSRRDSVPASHDTPYNLELSISLYR
[0822] ELGHKSTTSNIFFSQVSIATAFAMLSLGEKGDHTHTQILEGLQFNLTQTSEADIHKA
[0823] FQHLLQTLNRPDSELQLSTGNGLSLLNNDLKLVEKFLEEAKNNYHSEVFSVNFAE
[0824] SEEAKKVINDFVEKGTQGKIAEAVKDPDED TVFALANYILFKGKWKPPDPKHT
[0825] EEAEFHVDTVTTVKVPMMTLTGMLDVHHCSTLSSWVLLMDYLG NRTAVFLLP
[0826] DDGKMQHLEQTLNKLISKFLLNRHRLAQVHLPRLSLSGNYTLNTLMSHLGIT
[0827] RIFNNGADLSGITEENAPLKLSKAADKAVLTMD ETGTEAAAATVLQAVPMSMP
[0828] PILNFNKPFIIFIIVEHTQSPLFVGKVVDPTRK
[0829] SEQ ID NO :98 (α -1- 抗蛋白酶)
[0830] MTPSISWRLLLLLAGLCLVPSYLAEDVQETDTSQKQSPASHEMATNLGDFAFS
[0831] LYRELVHQSNSTSNIFFSPVSIATAFALLSLGSKGDTQTQILEGLQFNLTQTSEADIH
[0832] KVFQHLLQTLNRPDSELQLSTGNGLFVNNDLKLVEKFLEEAKNHYQSEVFSVNF
[0833] AKSEEARKMINDFVEKGTQGKIVDAVKDLDED TVFALANYIFFQKGWKTPFDP
[0834] EHTTEADFHVNESTTVRVPMMLMRMLDVHYCSTLSSWVLMMDYLG NATAV
[0835] FLLPDDGKMQHLEQTLNKLISKFLLNRHRLAEIHFPRLSISGSYNL KALMAPL
[0836] GITRVFNNGADLSGITEENAPLRSLKAVHKAVLTID ERGTEAAATTIVEAVFMSL
[0837] PPILHFNHPFVFTIVETHTQTPLFVGKVVDPTRK
[0838] SEQ ID NO :99 (α -1- 抗蛋白酶)
[0839] MAPSISRGLLLLAALCCLAPSFLAEDAQETDTSQQDQSPTYRKISSNLADFAFSL
[0840] YRELVHQSNSTSNIFFSPMSITTAFAMLS LGSKGDTRKQILEGLEFNLTQIPEADIH
[0841] KAFHLLQTLNRPDSELQLNTGNGLFVNKNLKLVEKFLEEVKN NYHSEAFSVNF
[0842] ADSEEAKKVINDYVEKGTQGKIVDLMKQLDED TVFALVNYIFFKGKWKRPFP
[0843] EHTRDADFHVDKSTTVKVPMMNRLGMFDMHYCSTLSSWVLMMDYLG NATAI
[0844] FLLPDDGKMQHLEQTLTKDLISRFLN RQTRSAILYFPKLSISGTYNLKTLLSSLGI
[0845] TRVFNNDADLSGITEDAPLKLSQAVHKAVLTLD ERGTEAAGATVVEAVPMSLPP
[0846] QVKFDHPFIFMIVESETQSPLFVGKVIDPTR
[0847] SEQ ID NO :100 (α -1- 抗胰蛋白酶)
[0848] MKPSISWGILLLAGLCLVPSFLAEDAQETDASKQDQEHQACCKIAPNLADFSFN
[0849] LYRELVHQSNSTSNIFFSPVSIATAFAMLSLGTKGVTHHTQILEGLGFNLTEIAEAEV
[0850] HKGFHNLQTFNRPDNLQLTTGNGLFIHNNLKLVDKFLEEVKNDYHSEAFSVN

- [0851] FTDSEEAKKVIINGFVEKGTQGGKIVDLVKDLDKDTVLAALVNYIFFKGGKWKPFDF
[0852] ADNTEEADFHVDKTTTVKVPMMRRLGMFVDVHYVSTLSSWVLLMDYLGNTAI
[0853] FILPDDGKMQHLEQTLNKEIIGKFLKDRHTRSANVHFPKLSISGTYNLKTALDPL
[0854] GITQVFSNGADLSGITEDVPLKLKGAHVHKAVALTIDERGTEAAGATFMEIIPMSVP
[0855] PEVNFNSPFIATIIYDRQTAKSPLFVGKVVDPTR
[0856] SEQ ID NO :101 (α -1- 抗胰蛋白酶)
[0857] HVEDPQGDAQAQKTDTSHTDQEHSTFNKITPSLAFAFSLYRQLAHQSNSTNIFFS
[0858] PVSIATAFAMLSLGTKADTHSEILEGLNFNLTETPEAQIHEGFQELLHTLNKPDQS
[0859] LQLTTGNGLFLNKSVMKVDKFLVDVKKLYHSEAFSVNFEDTEEAKKQINNYVE
[0860] KGTQGGKIVDLVKELDRDITVFALVNYIFFKGGKWERPFVEATKEEDFHVDQATT
[0861] VKVPMRRLGMFNIIHCEKLSSWVLLMKYLGNTAIIFFLPDEGKLQHLENELT
[0862] HDIITKFLENENRRSANLHLPKLAITGTIDYDLKTVLGHGKITKVFSGADLSGVTE
[0863] DAPLKLSKAVHKAVALTIDEKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQN
[0864] TKSPLFMGKVVNPTQK
[0865] SEQ ID NO :102 (α -1- 抗胰蛋白酶)
[0866] LLLAGLCCLLPGLAEDPQGDAQAQKTDTPPHDQNHPTLNKITPSLAFAFSLYRQ
[0867] LAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSLGTKADTHSEILEGLNFNLTETPEAQVHEGF
[0868] QELLRTLKPDSQLQLTTGNGLFLNKSVMKVDKFLVDVKKLYHSEAFSVNFEDT
[0869] EEAKKQINNYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDITVFALVNYIFFKGGKWERPFVEAT
[0870] EEEDFHVDQATTVKVPMRRLGMFNIIHCEKLSSWVLLMKYLGNTAIIFFLPD
[0871] EGKLQHLENELTHDIITKFLENENRRSANLHLPKLAITGTIDYDLKTVLGHGKITK
[0872] FSNGADLSGVTEADAPLKLSKAVHKAVALTIDEKGTEAAGAMFLEAIPMSIPPEVKF
[0873] NKPFVFLMIEQNTKSPLFIGKVVNPTQK
[0874] SEQ ID NO :103 (α -1- 抗胰蛋白酶)
[0875] MPSSVSWGILLLAGLCCLVPVSLAEDPQGDAQAQKTDTSHTDQDHPTFNKITPNL
[0876] AEFASFSLYRQLAHQSNSTNIFFSPVSIATAFAMLSLGTKADTHSEILEGLHFNLTET
[0877] PEAQVHEGFQELLRTLKPDSQLQLTTGNGLFLNKSVMKVDKFLVDVKKLYHSD
[0878] AFTVNFQDTEEAKKQINDYVEKGTQGGKIVDLVKELDRDITVFALVNYIFFKGGK
[0879] ERPFEVKDTKEEDFHVDEVTTVKVPMRRLGMFNIIHCEKLSSWVLLMKYLG
[0880] NATAIIFFLPDEGKLQHLENELTHDIITKFLENENRRSASLHLPKLSITGTIDYDLKRV
[0881] LGQLGITKVFSGADLSGVTEEAPLKLSKAVHKAVALTIDEKGTEAAGAMFLEAI
[0882] PMSIPPEVKFNKPFVFLMIEQNTKSPLFVGKVVNPTQK
[0883] SEQ ID NO :104 (α -1- 抗蛋白酶)
[0884] MALSI TRGLLLAALCCLAPISLAGVLQGHAVQETDDTSHQEAACHKIAPNLN
[0885] FAFSIYHHLAHQSNTSNIFFSPVSIASAFAMLSLGAAGNTHTEILKGLGFNLTELA
[0886] EAEIHKGFQHLHTLNQPNHQLQLTTGNGLFINESAKLVDTFLEDVKNLYHSEA
[0887] FSINFRDAEEAKKQINDYVEKGSHGKIVELVKVLPNTVFALVNYISFKGKWEK
[0888] PFEMKHTTERDFHVDEQTTVKVPMRRLGMFDLHYCDKLASWVLLLDYVGN
[0889] VTACFILPDGLKQLLEDKLNELLAKFLEKKYASSANLHLPKLSISETYDLKSV

- [0890] LGDVGITEVFSDRADLSGITKEQPLKVSKALHKAALTIDEKGTEAVGSTFLEAIP
- [0891] MSLPPDVEFNRPFLCILYDRNTKSPFLVFGKVVNPTQA
- [0892] SEQ ID NO :105 (α -1- 抗胰蛋白酶)
- [0893] MASSSTWGLLLLAGLCLLPVISLAEGHQGHAVQETDVPRHDHEQHQEAACHRI
- [0894] APNLADFAFSLYRQVARQSNTSNIFLSPVTIARAFAMLSLGTKGATHAEILEGLQ
- [0895] FNLTEKAEAEIHEGFQHLHLLHTLNQPDNQLQLTTGNGLFIDEKAKLVPKFLEDVK
- [0896] NLYHSEAFSINFRDTEEAKKCINDYVEKGSQGKIVDLVDELDKDTVFALVNYIFF
- [0897] KKGWEKPFEVEQTTEEDFHVDEETT VKVPMNRLGMFDLHHC DKLSSWVLLM
- [0898] DYVATATAFFILPDQGKLHQLEDMLTKEIRAKFLEKRYPPSSANLHLPKLTISGTY
- [0899] DLKSLGNLGITKVFSDADLSGVTEEQPLKLSKALHRAVLTIDEKGTEATGATI
- [0900] LEAIPMSIPPVKNKPFLLIYDTKTAVLFMGKVMNPTQK
- [0901] SEQ ID NO :106 (α -1- 抗蛋白酶 F)
- [0902] MPSPSVSRALLLAGLGLLPGLADEAQETAVSSHEQDHPACHRIAPSLAEFALS
- [0903] LYREVAHESNTTNIFFSPVSIALAFAMLSLGAKGDTHQVLEGLKFNLTTETAEAQ
- [0904] IHDGFRHLLHTVNRPDSELQLAARNALVVHENLKLQHKFLEDAKNLYQSEAF
- [0905] VDFRDPEQAKTKINSHVEKGTRGKIVDLVQELDARTLLALVNYVFFKGKWEKP
- [0906] FEPENTKEEDFHVNATTTVRVPMMSRLGRYDLFHCSTLASTVLRMDYKGNATA
- [0907] LFLLPDEGKLQHLEDTLTTELITKFLAKSSLRSVTVHFPKLSISGTYDLKPLLGLK
- [0908] GITQVFSNADLSGITEQEPLKASQALHKAULTIDERGTEAAGATYMEIIPMSLP
- [0909] DSITLDRPFLFVIYSHEIKSPLFVGKVVDPDTH
- [0910] SEQ ID NO :107 (α -1- 抗蛋白酶)
- [0911] MMPSTLSLCLMLAGLCSLVTSHLTEEIQASNDTENEYSSTRRISPYMTDFSIDFYR
- [0912] LLVSKSNTTNIFFSPISIIYTAFTLLALGAKSATRDQILTGLRFNRTEISEEHIFEGFQ
- [0913] QLLNTFNLPENELQLTTSNGLFIDKNLKLVAKFLEDSKRLYASDTFSTNFEDNMA
- [0914] AKKQINDYVEKETQGKIVDLIQNLDSNVFVLVNCIFFKGKWEKPFMTTELTEC
- [0915] PFHVDSKTTVPVQTMRRLGMFNVFYDQDLSCWVLKMKYMGNATALFILPDTG
- [0916] KIEKVENALNKMLFHKWTRNLKRRAISLYFPKVSISGNYDLKILRELGITDVFSG
- [0917] NADLSGITEETNLKLSQAVHKAVVNIDEKGTEASGATFAEGIPMSIPPTVEFLRPF
- [0918] IFIILEENTKSVLFMGKVMNPTGN
- [0919] SEQ ID NO :108 (丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制剂, 进化支 A (α -1 抗蛋白酶, 抗胰蛋白酶), 成员 5 [智人])
- [0920] MQLFLLLCLVLLSPQGASLHRHHPREMKKRVEDLHV GATVAPSSRRDFTFDLY
- [0921] RALASAAPSQSIFSPVSISMSLAML SLGAGSSTKMQILEGLGLNLQKSSEKELHR
- [0922] GFQQLLQELNQPRDGFQLSLGNALFTDLVVDLQDTFVSAMKTLYLADTFPTNFR
- [0923] DSAGAMKQINDYVAKQTKGKIVDLLKNLDSNAVIMVNYIFFKAKWETSFNHK
- [0924] GTQEQQDFYVTSETVVRVPMMSREDQYHYLLDRNLSCRVVGPYQGNATALFIL
- [0925] PSEGKMQQVENGLSEKTLRKWLKMFKKRQLELYLPKFSIEGSYQLEKVLPSLGI
- [0926] SNVFTSHADLSGISNHSNIQVSEMVHKAVVEVDESGTRAAAATGTIFTFRSARLN
- [0927] SQRLVFNRPFLLMFIVDNNILFLGKVNRP

- [0928] SEQ ID NO :109 (丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制剂, 进化支 A, 成员 5 [小鼠])
- [0929] MRFFPILCLVLFISHGVASRRHSHSKKKKAKESSVGAVGPPSSKDFAFRLYRALV
- [0930] SESPGQNVFFSPLSVSMLGMLSLGAGLTKTKQILDGLGLSLQQGQEDKLHKGF
- [0931] QQLLQRFRQPSDGLQLSLGSALFKDPAVHIRDDFLSAMKTYMSDTFSTNFGNP
- [0932] EIAKKQINNYVAKQTKGKIVDFIKDL DSTHVMIVVNYIFFRAKWQTAFSETNTH
- [0933] KMDFHVTPKRTTQVPMNREDGYSYLDQNISCTVVGIPYQGNAIALFILPSEG
- [0934] KMKQVEDGLDERTLRNLKMFTRRLDLYLPKFSIEATYKLENVLPKLG IQDV
- [0935] FTTHADLSGITDHTNIKLSEMVHKSMMEVEESGTTAAAITGAIFTFRSARPSCLKI
- [0936] EFTRPFLTLMEDSHILFVGKVTRP
- [0937] SEQ ID NO :110 (丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制剂, 进化支 C (抗凝血酶), 成员 1 [褐家鼠])
- [0938] MYSPGIGSAVAGERKLCLLSLLLIGALGCAVCHGNPVDDICTIAKPRDIPVNP MCI
- [0939] YRSPAKKATEEDVLEQKVPEATNRRVWELSKANSRFATNFYQHLADSKNDND
- [0940] NIFLSPLSISTAFAMTKLGACNNTLKLMEVFKFDITSEKTS DQIHFFF AKLNCRL
- [0941] YRKANKSSNLVSANRLFGDKSLTFNESYQDVSEIVYGAKLQPLDFKENPEQSRV
- [0942] TINNWVANKTEGRIKDVIPQGAIDELTALVLVNTIYFKGLWKS KFS PENTRKEPF
- [0943] HKVDGQSCLVPMMYQEGKFYRRVGEQTQVLEMPFKGDDITMVLILPKPEKSL
- [0944] AKVEQELTPELLQEWLDELSEVMLVVHVPFRFRIEDSFSLKEQLQDMGLVDLFS P
- [0945] EKSQ LPGIIAEGRDDLVSDAFHKAFLEVNEEGSEAAASTSVVITGRSLNPSRVTF
- [0946] KANRPFLVLI REVALNTIIFMGRVSNPCVN
- [0947] SEQ ID NO :111 (抗凝血酶 -III)
- [0948] MYSPGAGSGAAGERKLCLLSLLLIGALGCAICHGNPVDDICTIAKPRDIPVNPLCIY
- [0949] RSPGKKATEEDGSEQKVPEATNRRVWELSKANSRFATNFYQHLADSKNDNDNI
- [0950] FLSPLSISTAFAMTKLGACNDTLKLMEVFKFDITSEKTS DQIHFFF AKLNCRLYR
- [0951] KANKSSDLVSANRLFGDKSLTFNESYQDVSEVVYGAKLQPLDFKENPEQSRVTI
- [0952] NNWVANKTEGRIKDVIPQGAINELTALVLVNTIYFKGLWKS KFS PENTRKEPFY
- [0953] KVDGQSCVPVPMMYQEGKFYRRVAEGTQVLELPFKGDDITMVLILPKPEKSLA
- [0954] KVEQELTPELLQEWLDELSETMLVVHMPFRFRTEDGFSLKEQLQDMGLIDLFSPE
- [0955] KSQ LPGIVAGRDDLYVSDAFHKAFLEVNEEGSEAAASTSVVITGRSLNPNRVTF
- [0956] FKANRPFLVLI REVALNTIIFMGRVANPCVN
- [0957] SEQ ID NO :112 (抗凝血酶 -III)
- [0958] MYSNVIGTITSGKRKVYLLSLLLIGFWDCVTCHGSPVDICTIAKPRDIPMNP MCIYR
- [0959] SPEKKATEDEGSEQKIPEATNRRVWELSKANSRFATTFYQHLADSKNDNDNIFL
- [0960] SPLSISTAFAMTKLGACNDTLQQLMEVFKFDITSEKTS DQIHFFF AKLNCRLYRK
- [0961] ANKSSKLVSANRLFGDKSLTFNETYQDISELVYGAKLQPLDFKENAEQSRAAIN
- [0962] KWVSNKTEGRITDVIPPEAINELTVLVVNTIYFKGLWKS KFS PENTRKELFYKA
- [0963] DGESCSASMMYQEGKFYRRVAEGTQVLELPFKGDDITMVLILPKPEKSLAKVE
- [0964] KELTPEVLQEWLDELEEMMLVVHMPFRFRIEDGFSLKEQLQDMGLVDLFSPEKS
- [0965] KLPGIVAEGRDDLYVSDAFHKAFLEVNEEGSEAAASTAVVIAGRSLNPNRVTFK

- [0966] ANRPFLVFIREVPLNTIIFMGRVANPCVK
- [0967] SEQ ID NO :113 (抗凝血酶-III)
- [0968] MISNGIGTVTTGKRSMCLFPLLLIGLWGCVTCHRSVEDICTAKPRDIPVNPICIIY
- [0969] RSPEKKATEGEGSEQKIPGATNRRVWELSKANSHFATAFYQHLADSKNNNDNIF
- [0970] LSPLSISTAFAMTKLGACNNTLKQLMEVFKFDITSEKTSQIHFFFAKLNCRLYR
- [0971] KANKSSELVSANRLFQDKSITFNETYQDISEVVYGAQLQPLDFKGNAEQSRLTIN
- [0972] QWISNKTEGRITDVIPPQAIDEFTVLVLVNTIYFKGLWKSFKSPENTKKELFYKA
- [0973] DGESCSVPMYQEGKFRYRRAEGTQVLELPFKGDDITMVLILPKLEKPLAKVE
- [0974] RELTPDMLQEWLDELTTLLVHMPHFRIEDSFSVKEQLQDMGLEDLFSPEKSR
- [0975] LPGIVAEGRNLDLYVSDAFHKAFLEVNEEGSEAASTVISLAGRSLNLRVTFQAN
- [0976] RPFLVLIREVALNTIIFMGRVANPCVN
- [0977] SEQ ID NO :114 (凝血酶抑制剂 infestin 前体 [骚扰锥蝱 (*Triatoma infestans*)])
- [0978] LEENDCACPRVLHRVCGSDGNTYSNPCTLDCAKHEGKPDLVQVHEGPCDPNDH
- [0979] DFEDPCECDNKFEPVCGTDHITYSNLCHLECAAF TTSPGVEVKYEGECHAEIME
- [0980] QHQILKSCICTKMYKPVCGTDGHTYPNLCVLKCRIS SKPGLKLAHVKGCGIGLL
- [0981] AVETKEVRNPCACFRNYVPVCGSDGKTYGNPCMLNCAAQTKVPGLKLVHEGR
- [0982] CQRSNVEQF
- [0983] SEQ ID NO :115 (brasiliensin 前体 [*Triatoma brasiliensis*])
- [0984] MRYLLLLGLAAFSASVSAEEKDPPCACPLIWKPVCGNDGQTYPNECLLNCIKYVL
- [0985] KKDIEVAYQGICKHFVHAAAEEELVESKPPCACPLIWKPVCGNDGQTYPNEC
- [0986] MLNCMKYILKKDIEVAYQGMCKHFVHAAAEEELVESKNPCECPRALHRVCGS
- [0987] DGNTYSNPCTLNCAKHEGKPDLVQVHEGPCSPDEHDFEDPCECDNKFDPVCGT
- [0988] DKVTYRNLCXLECAMFTTSPGVEVDYEGECLAETVLLLEENHCACPRVLHRVCG
- [0989] SDGNTYSNPCTLDCAKHEGKPDLVQVHEGPCDPNDHDFEDPCECDNKFEPVCG
- [0990] TDHITYSNLCHLECAAF TTSPGVEVKYEGECHAEIMEQHQILKSCICTKIYSPVCG
- [0991] TDGHTYPNLCILECHISFNPLGLKLAHVKGCGTDLQDIETKQVRNPCACFRNYLPV
- [0992] CGSDGKTYGNPCMLNCAAHTKVPGLKLAHKGRCSRSDVEQF
- [0993] SEQ ID NO :116 (丝氨酸蛋白酶抑制剂 dipetalogastin)
- [0994] LIKELVMVIQHAEEEEVKELKNPCECPRALHRVCGSDGNTYSNPMLNCAKH
- [0995] EGNPDLVQVHKGPCDEHDFEDPCKCDNKFEPVCGDDQITYLNLCHLECATF
- [0996] TTSPGVEVAYEGECHAETNAMEVLFQGNPCECPRALHRVCGSDGNTYSNPCM
- [0997] LTCAKHEGNPDLVQVHEGPCDEHDFEDTCQDDTFQPVCGDDEITYRNLC
- [0998] LECATFTTSPGVEVKHEGECHPETKVNQLILKSCMCPKIYKPVCGTDGRTYPNIC
- [0999] VLKCHISSNPGLGLAHLGECKVAVLAKETGEVRNPCNCFRNFNPVCGTDGKTY
- [1000] GNLCMLGCAAETKVPGLKLLHNGRCLPKEQL
- [1001] SEQ ID NO :117 (凝血酶抑制剂蛋白 [长红锥蝱 (*Rhodnius prolixus*)])
- [1002] RLLLLLGLAALVAAEGGEPACPHALHRVCGSDGETYSNPCTLNCAKFNGKPEL
- [1003] VKVHDGPCEPDEDEDVCQECGDGEYKPVCGSDDITYDNNCRLECASISSSPGVE

- [1004] LKHEGPCRTEEEKILKRSDEFEMYRCACPKIYYPVCGTDGETYPNLCVLECHMR
- [1005] MNPGLQLHHYGHCHHHHHHHPPHHHHHHHPHHTTEKPVPCACPHALHRVC
- [1006] GSDGETYSNPCTLNCAKHNGKPGLVKVHDGPCEPDEDEDVCQECDDVDYEPVC
- [1007] GTDDKTYDNNCRLECASISSSPGVELKHEGICRKEEKKLPKRSVGLHTCVCPI
- [1008] NYFPVCGTDGETYPNLCALQCRMREVPGLELKHTGKCLPHLDFPDPV
- [1009] SEQ ID NO :118 (凝血酶抑制剂蛋白 [长红锥蝱])
- [1010] MKRLLLLLGLAALVAAEGGEPACPHALHRVCGSDGETYSNPCTLNCAKFNGK
- [1011] PELVKVHDGPCEPDEDEDVCQECDEYKPVCGSDGITYDNNCRLECASISSSP
- [1012] GVELKHEGICRKEEKKLPKRSVGLHTCVCPIYNYFPVCGTDGETYPNLCALQCR
- [1013] MREVPGLELKHTGKCLPHLDFPDPV
- [1014] SEQ ID NO :119 (凝血酶抑制剂 haemalin [长角血蜱 (Haemaphysalis longicornis)])
- [1015] MKLFLVFLALFGAAFAQRNGFCRLPAEPGICRAFMPRYFDVEKGQCEQFIYGGC
- [1016] KGNENNFETLKECQDACGEPERASDFEKADFETGCKAAPETGLCKASFERWFFN
- [1017] AASGECEEFYGGCGGNDNNYENKEECEFAKY
- [1018] SEQ ID NO :120 (boophilin [微小牛蜱 (Boophilus microplus)])
- [1019] MKCIILLAVLGTAFARNGFCRLPADEGICKALIPRFYFNTETGKCTMFSYGGCG
- [1020] GNENNFETIEECQKACGAPERVNDVESADFKTGCEPAADSGSCAGQLERWFYN
- [1021] VQSGECETFYGGCGGNDNNYSEEECELVCKNM
- [1022] SEQ ID NO :121 (boophilin [微小牛蜱 (Boophilus microplus)])
- [1023] MKYLILLAVLGTAFARNGFCRLPADEGICKALIPRFYFNTETGKCTMFSYGGCG
- [1024] GGNENNFETIEDCQKACGAPERVSDFEGADFKTGCEPAADSGSCAGQLERWFY
- [1025] NVRSCECETFYGGCGGNDNNYSEEECELVCKNM
- [1026] SEQ ID NO :122 (Ornithodorin)
- [1027] LNVLCNNPHTADCNNDAQVDYRFREGTTCLMSPACTSEGYASQHECQACFV
- [1028] GGEDHSSEMHSCLGDPPTSCAEGTDITYYDSSTCKVLAASCPSGENTFESEV
- [1029] ECQVACGAPIEG
- [1030] SEQ ID NO :123 (凝血酶抑制剂 [非洲钝缘蜱 (Ornithodoros moubata)])
- [1031] LNVLSNNPHTADCNNDAQVDYRFREGTTCLMSPACTSEGYASQHECLRPALLA
- [1032] GKTTAVKCTAHALVTRPLPARKARTSPTTILIAKHVRY
- [1033] SEQ ID NO :124 (savignin [Ornithodoros savignyi])
- [1034] MLFYVVITLVAGTVSGLNVRNPNHTANCENGAKLESYFREGETCVGSPACPG
- [1035] GYATKEDCQKACFPGGGDHSTNVDSSCFGQPPTSCETGAEVYTYDSGSRTCKV
- [1036] LQHGCPSSENAFDSEIECQVACGVSME
- [1037] SEQ ID NO :125 (凝血酶抑制剂 [Amblyomma hebraeum])
- [1038] MGFLVASAVLVCVTSQRPVGYCKKKPAVGPCALIEKWYFDYSTQSCKTFYYG
- [1039] GCGGNGNKFSSRKKCREACLPKRSPVPVCKQMPDPGFCRAYMPHWWFNSKSGY
- [1040] CEGFVYGGCQGNDNRFKSCWQCMKKCRTAREANRLCWKLTKFNKKFLRNVP
- [1041] TAKPLPPK

- [1042] SEQ ID NO :126 (凝血酶抑制剂 [Amblyomma americanum])
- [1043] MRPQAFIGAFVFTLVLRQAAGIKWSRCFRPKAVGNCQNKVPAWYYDFWSFRC
- [1044] KGFLYSGCGNSNRFPTEEECKQSKLRKSKRKEVCSLKPCTGKCKAAIPLWYYD
- [1045] PELDECRLIYGGCKGNANRFETCLKCMKRCSGNNARKICKKQTKKFLEENN
- [1046] LGSNRHHKKPSWPQLSIRIPFIEK
- [1047] SEQ ID NO :127 (凝血酶抑制剂 [黑脚硬蜱])
- [1048] MHQEGDFKMGHCSDLKVSALIPYKGNKMSMVILLPEDVEGLSDLEEHLTAPK
- [1049] LLALLGGMVYVTSVNLHFPKFKLEQSMGLKDVLMAMGVKDFFTFLADLSGISA
- [1050] TGNLCASDVIIKAFVEVNNEEGTEAAAAATAILMDCIPQVVNFFVDHPFMFLICSH
- [1051] DPDAVLFMGSIREL
- [1052] SEQ ID NO :128 (凝血酶抑制剂 [黑脚硬蜱])
- [1053] MHQKGFDFKMGHCSDLKVTALIPYKGNKMSMIILLPEDVEGLSVLEEHLTAPKL
- [1054] SALLGGMVYVTPDVNLRLPKFKLEQSIGLKDVLAMAMGVKDFFTSLADLSGISAAG
- [1055] NLCASDVIIKAFVEVNNEEGTEAAAAATAIPMMLMCARFPQVVNFFVDHPFMFLIH
- [1056] SHDPDVVLFMGSIRESL
- [1057] SEQ ID NO :129 (凝血酶抑制剂 [黑脚硬蜱])
- [1058] MASDFSNSLISFSVDLYKKLKSESDGASNFCSPFSIAAALSMTLAGAKHDTAKQI
- [1059] SNALHMQDTTVHENFAYFFSKLPGYAPDVILHVNRLYAEETYNTLDEFTHLLE
- [1060] KSYSTTVEKVDKRNAEKTRLQVNTWVEEVTQSKIKDLAEGTIDDFTSIIINA
- [1061] VYFKGLWHDQFDPKRTSQEFHLTADRTKMVDMMHKQRFMRHPNFKVS
- [1062] ALEIPYKQKMSMVILLPEEIDGLADLEETLTSSKIREIIQELSYQGDIELSLPRFKL
- [1063] EHTVGLKNVLAAMGIEDMFDALKCDLSGISPDNALVVSDVVKAFIEVNNEEGTE
- [1064] AAAATAMVMLCCMSFPTRFTVDHPFLFLIRCHDPDVILFIGSVAQI
- [1065] SEQ ID NO :130 (tsetse 凝血酶抑制剂前体 [Glossina morsitans morsitans])
- [1066] MKFFTIVLFFLLSIIYLIVAAPGEPGAPIDYDEYGDSSSEEVGGTPLHEIPGIRL
- [1067] SEQ ID NO :131 (凝血酶抑制剂 madanin 2 [长角血蜱])
- [1068] MKHFVILILAVVASAVVMAYPERDSAKDGNQEKERALLVKVQERYQGNQGDY
- [1069] DEYDQDETTPPPDPTAQTARPLRQNQD
- [1070] SEQ ID NO :132 (凝血酶抑制剂 madanin 1 [长角血蜱])
- [1071] MKHFAILILAVVASAVVMAYPERDSAKEGNQEQERALHVKVQKRTDGDADYD
- [1072] EYEEDGTTPTPDPTAPTAKPRLRGKNP
- [1073] SEQ ID NO :133 (抗凝血酶 -III)
- [1074] MHLFIGVSLRPLGHGIPAPYAVEDICTAKPRDIPVNPICIYRNPEKKPQERRGAGA
- [1075] GEGQDPGVHKPPASGSCPGPTRAFGRSFLQAPGPTPRTMRRTSSCRPS
- [1076] SEQ ID NO :134 (凝血酶抑制剂 [Amblyomma hebraeum])
- [1077] MGFLVASAVLVCVTSQRVPGYCKKKPAVGPCALIEKWYFDYSTQSCKTFYYG
- [1078] GCGGNGNKFSSRKKCREACLPKRPSVPVCKQMPDPGFCRAYMPHWWFNSKSGY
- [1079] CEGFVYGGCQGNDRFKSCWQCMKKCRTAREANRLCWKLTKEFNKKFLRNVP
- [1080] TAKPLPPK

- [1081] SEQ ID NO :135 (凝血酶抑制剂 [Amblyomma americanum])
- [1082] MRPQAFIGAFVFTLVLRQAAGIKWSRCFRPKAVGNCQNKVPAWYYDFWSFRC
- [1083] KGFLYSGCGGNSNRFPTEEECQKSLRKSKEVCSLKPCTGKCKAAIPLWYYD
- [1084] PELDECRLIYGGCKGNANRFETCLKCMKRCSGNNARKICKKQTKKFLEENN
- [1085] LGSNRHHKKPSWPQLSIRIPFIEK
- [1086] SEQ ID NO :136 (凝血酶抑制剂, TTI = 抗血栓肽 [Glossina morsitans])
- [1087] GEPGAPIDYDEYGDSSSEEIG
- [1088] SEQ ID NO :137 (凝血酶抑制剂 [Amblyomma americanum])
- [1089] MEIKRCVHVLLTLATVYGTSVSISSICSLPQVKGNCRGIFEMWHYNSTKDTCSLF
- [1090] TYGGCGGNNENRFENCTQCMESCSTNENRTEICQLEKEADEDYYSGWDDNTGG
- [1091] DGYTAPPREAYDEYDEE
- [1092] SEQ ID NO :138 (Theromin)
- [1093] ECENTECPRACPEYEFDEDCNTCVCKGCDDAQCRCSDDANGCESFCTCNTR
- [1094] CSAADECNPRCTCK
- [1095] SEQ ID NO :139 (monobin [Argas monolakensis])
- [1096] MRLLALFAFAVAVVSAQRNMQCQPRTQGSCDASNQITKFFYTGSCTGTSAPVC
- [1097] SDTDGGYGTEDECIQACTVQGGHHNEGAGEEGCSGDPPRGDCGGQVEERYFYD
- [1098] STTRTCQTFEYRGCSGNPDNSYETEIECEIACPSASS
- [1099] SEQ ID NO :140 (类似于凝血酶抑制剂 [大乳头水螅 (Hydra magnipapillata)])
- [1100] MCLRCRPCEPDLCPPLCNGGYVKGICGCCDTCAKVDGEECGGLWNMYGKC
- [1101] DVGFCVCAQVKRHTKGVCVSVKKKSNNKENTCALKPETGPCRAAIKAWYYDYK
- [1102] TDTCKRFVYGGCGGNSNRFREKKMCQKTCYA
- [1103] SEQ ID NO :141 (凝血酶抑制剂亚基 1)
- [1104] EKFPVAVNQKPQAAXL
- [1105] SEQ ID NO :142 (类似于凝血酶抑制剂 [黄牛 (Bos taurus)])
- [1106] MDALSEANGTFALTLLKKLGEGSSKNVFISPLSISSALAMVLMGARGNTAAQMC
- [1107] QTLSLNKSSGGGEDVHQGFQNLSEVNRTDPRLLAQNRQRGFSGDKTYDFLSSSF
- [1108] KDSCRXILPSRDGRAGLYQRYGAVQEAHKLGS
- [1109] SEQ ID NO :143 (胰蛋白酶抑制剂 1)
- [1110] MATTMAKLITLVLAAILAFVEVSVSGYKTSISTITIEDNGRCTKSIPPICFPDGRP
- [1111] SEQ ID NO :144 (磷脂酰乙醇胺结合蛋白 1)
- [1112] MPVDLGKWSGPLSLQEVEERPQHALHVKYTGTEVDELGKVLTPQVKNRPTSI
- [1113] AWDGLDPGKLYTLVLTDPDAPSRKDPKYREWHHFLVNMKGNDISSGTVLSD
- [1114] YVSGSGPPKGTGLHRYVWLVEEQSGPLKCDEPILSNRSGDHRGKFKVASFRKKY
- [1115] ELGPPVAGTCYQAEWDDYVPKLCEQLSGK
- [1116] SEQ ID NO :145 (bothrojaracin = 凝血酶诱导的血小板聚集抑制剂 15kda 多肽 {N- 末端} [Bothrops jararaca])
- [1117] DCPDWSPPYGGCYXF
- [1118] SEQ ID NO :146 (thrombostasin [Haematobia irritans])

- [1119] NINIMKHFVVIGILALSAVCQAQNVLSGRRQHGAQGLSGYSGDNDWGYYGEAG
- [1120] APGSDYSGSSGQWAPLDFDYNLPLGLSGYNHEQQDYEDDSYRHVRSAGPITLQL
- [1121] DDDDDDDSGIPIFEMDDEDEDSNDNQKFPPLSFERFPENEKNQVGLRARFNKFMA
- [1122] KFTSLFGRRRGVNVPNAA
- [1123] SEQ ID NO:147(hemadin[森林山蛭(Haemadipsa sylvestris)])
- [1124] CDCGEKICLYGQSCNDGQCSGDPKPSSEFEFEIDEEK
- [1125] SEQ ID NO:148([冈比亚按蚊(Anopheles gambiae str. PEST)])
- [1126] MASKLFVLAFLCLALVVVVQSAPQYARGDVPTYDEEDFDEESLKPSSSSSDDG
- [1127] EEEFDPSLLEEADAPTARDPGRNPEFLRNSNTDEQASAPAASSSESDE
- [1128] SEQ ID NO:149(anophelin-like funestolin[不吉按蚊(Anopheles funestus)])
- [1129] MATKLIVIAFLCAALIAVVQSAPQYAQGEPTYDEDDDEPVKPHSSADPDASYE
- [1130] EFDPSQLTEYANTAQDPGRRPHFLEQANSNGDQLPSQSDSSSESTEH
- [1131] SEQ ID NO:150(唾液抗凝血酶 anophelin[史帝芬塞疟蚊(Anopheles stephensi)])
- [1132] MASKVIVIALLCIALAAFVQGAPQYTHGEEPEYDEDDGADEPVQPHSSSNHADT
- [1133] EDDFDLSLLDKPYANAPENADPGRRPEFLKQHNNENQSDSSSGSTEN
- [1134] SEQ ID NO:151(唾液抗凝血酶肽 anophelin[Anopheles darlingi])
- [1135] MANKLFLISLLCVLAKIAQAAPQYAPGEEPSYDEDTDDKLIENDTSITDEYA
- [1136] EIEASLSQAFTAADPGRRLGEGKKP
- [1137] SEQ ID NO:152(唾液抗凝血酶肽 anophelin[白魔按蚊(Anopheles albimanus)])
- [1138] MANKLVLISLLCVVLVAKITQAAPQYAPGDEPSYDEDTDDSDKLVENDTSITDE
- [1139] DYAAIEASLSETFNTAADPGRRLGEGSKP
- [1140] SEQ ID NO:153(蛭素,*Y是硫酸化的)
- [1141] VYTDCTESGQNLCLCEGSNVCQGKNCILGSDGEKNQCVTGEGTPKPQSHNDG
- [1142] DFEEIPEEY*LQ
- [1143] SEQ ID NO:154(合成肽)
- [1144] FEEIPEEYL
- [1145] SEQ ID NO:155(合成肽)
- [1146] YEPIPEEA
- [1147] SEQ ID NO:156(合成肽)
- [1148] NGDFEEIPEEYL
- [1149] SEQ ID NO:157(合成肽)
- [1150] APPFDFAIPEEYL
- [1151] SEQ ID NO:158(修饰的蛭素类似物)
- [1152] FPRMHKGGNGDFEEIPEEYL
- [1153] SEQ ID NO:159(修饰的蛭素类似物)
- [1154] FPRMHKGGNGDFEEIPEEYL

- [1155] SEQ ID NO :160 (修饰的蛭素类似物)
[1156] FPRMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1157] SEQ ID NO :161 (修饰的蛭素类似物)
[1158] FPRMHKTGGNGDFEEIPEEYL
[1159] SEQ ID NO :162 (修饰的蛭素类似物)
[1160] FPRMHKTGNGDFEEIPEEYL
[1161] SEQ ID NO :163 (修饰的蛭素类似物)
[1162] FPRMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1163] SEQ ID NO :164 (修饰的蛭素类似物)
[1164] FPRMHKTAGNGDFEEIPEEYL
[1165] SEQ ID NO :165 (修饰的蛭素类似物)
[1166] FPRMHKTANGDFEEIPEEYL
[1167] SEQ ID NO :166 (修饰的蛭素类似物)
[1168] FPRMHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1169] SEQ ID NO :167 (修饰的蛭素类似物)
[1170] F_bPRMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1171] SEQ ID NO :168 (修饰的蛭素类似物)
[1172] F_bPRMHKGGNGDFEEIPEEYL
[1173] SEQ ID NO :169 (修饰的蛭素类似物)
[1174] F_bPRMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1175] SEQ ID NO :170 (修饰的蛭素类似物)
[1176] F_bPRMHKTGGNGDFEEIPEEYL
[1177] SEQ ID NO :171 (修饰的蛭素类似物)
[1178] F_bPRMHKTGNGDFEEIPEEYL
[1179] SEQ ID NO :172 (修饰的蛭素类似物)
[1180] F_bPRMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1181] SEQ ID NO :173 (修饰的蛭素类似物)
[1182] F_bPRMHKTAGNGDFEEIPEEYL
[1183] SEQ ID NO :174 (修饰的蛭素类似物)
[1184] F_bPRMHKTANGDFEEIPEEYL
[1185] SEQ ID NO :175 (修饰的蛭素类似物)
[1186] F_bPRMHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1187] SEQ ID NO :176 (修饰的蛭素类似物)
[1188] FPRXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1189] SEQ ID NO :177 (修饰的蛭素类似物)
[1190] FPRXHKGGNGDFEEIPEEYL
[1191] SEQ ID NO :178 (修饰的蛭素类似物)
[1192] FPRXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1193] SEQ ID NO :179 (修饰的蛭素类似物)

- [1194] FPRXHKTGGNGDFEEIPEEYL
- [1195] SEQ ID NO :180 (修饰的蛭素类似物)
- [1196] FPRXHKTGGNGDFEEIPEEYL
- [1197] SEQ ID NO :181 (修饰的蛭素类似物)
- [1198] FPRXHKTGGNGDFEEIPEEYL
- [1199] SEQID NO :182 (修饰的蛭素类似物)
- [1200] FPRXHKTAGNGDFEEIPEEYL
- [1201] SEQID NO :183 (修饰的蛭素类似物)
- [1202] FPRXHKTANGDFEEIPEEYL
- [1203] SEQID NO :184 (修饰的蛭素类似物)
- [1204] FPRXHKTAGGNGDFEEIPEEYL
- [1205] SEQ ID NO :185 (修饰的蛭素类似物)
- [1206] F_bPRXHKGGGNGDFEEIPEEYL
- [1207] SEQ ID NO :186 (修饰的蛭素类似物)
- [1208] F_bPRXHKGNGDFEEIPEEYL
- [1209] SEQ ID NO :187 (修饰的蛭素类似物)
- [1210] F_bPRXHKGGGGNGDFEEIPEEYL
- [1211] SEQ ID NO :188 (修饰的蛭素类似物)
- [1212] F_bPRXHKTGGNGDFEEIPEEYL
- [1213] SEQ ID NO :189 (修饰的蛭素类似物)
- [1214] F_bPRXHKTGGNGDFEEIPEEYL
- [1215] SEQ ID NO :190 (修饰的蛭素类似物)
- [1216] F_bPRXHKTGGGNGDFEEIPEEYL
- [1217] SEQ ID NO :191 (修饰的蛭素类似物)
- [1218] F_bPRXHKTAGNGDFEEIPEEYL
- [1219] SEQ ID NO :192 (修饰的蛭素类似物)
- [1220] F_bPRXHKTANGDFEEIPEEYL
- [1221] SEQ ID NO :193 (修饰的蛭素类似物)
- [1222] F_bPRXHKTAGGNGDFEEIPEEYL
- [1223] SEQ ID NO :194 (修饰的蛭素类似物)
- [1224] FPRMHXGGGNGDFEEIPEEYL
- [1225] SEQ ID NO :195 (修饰的蛭素类似物)
- [1226] FPRMHXGGNGDFEEIPEEYL
- [1227] SEQ ID NO :196 (修饰的蛭素类似物)
- [1228] FPRMHXGGGGNGDFEEIPEEYL
- [1229] SEQ ID NO :197 (修饰的蛭素类似物)
- [1230] FPRMHXTGGNGDFEEIPEEYL
- [1231] SEQ ID NO :198 (修饰的蛭素类似物)
- [1232] FPRMHXTGNGDFEEIPEEYL

- [1233] SEQ ID NO :199 (修饰的蛭素类似物)
[1234] FPRMHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1235] SEQ ID NO :200 (修饰的蛭素类似物)
[1236] FPRMHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1237] SEQ ID NO :201 (修饰的蛭素类似物)
[1238] FPRMHXTANGDFEEIPEEYL
[1239] SEQ ID NO :202 (修饰的蛭素类似物)
[1240] FPRMHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1241] SEQ ID NO :203 (修饰的蛭素类似物)
[1242] F_bPRMHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1243] SEQ ID NO :204 (修饰的蛭素类似物)
[1244] F_bPRMHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1245] SEQ ID NO :205 (修饰的蛭素类似物)
[1246] F_bPRMHXGGGGNGDFEEIPEEYL
[1247] SEQ ID NO :206 (修饰的蛭素类似物)
[1248] F_bPRMHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1249] SEQ ID NO :207 (修饰的蛭素类似物)
[1250] F_bPRMHXTGNGDFEEIPEEYL
[1251] SEQ ID NO :208 (修饰的蛭素类似物)
[1252] F_bPRMHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1253] SEQ ID NO :209 (修饰的蛭素类似物)
[1254] F_bPRMHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1255] SEQ ID NO :210 (修饰的蛭素类似物)
[1256] F_bPRMHXTANGDFEEIPEEYL
[1257] SEQ ID NO :211 (修饰的蛭素类似物)
[1258] F_bPRMHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1259] SEQ ID NO :212 (修饰的蛭素类似物)
[1260] F_bPRHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1261] SEQ ID NO :213 (修饰的蛭素类似物)
[1262] F_bPRHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1263] SEQ ID NO :214 (修饰的蛭素类似物)
[1264] F_bPRHXGGGGNGDFEEIPEEYL
[1265] SEQ ID NO :215 (修饰的蛭素类似物)
[1266] F_bPRHXHTGGGNGDFEEIPEEYL
[1267] SEQ ID NO :216 (修饰的蛭素类似物)
[1268] F_bPRHXHTGNGDFEEIPEEYL
[1269] SEQ ID NO :217 (修饰的蛭素类似物)
[1270] F_bPRHXHTGGGNGDFEEIPEEYL
[1271] SEQ ID NO :218 (修饰的蛭素类似物)

- [1272] F_bPRXHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1273] SEQ ID NO :219 (修饰的蛭素类似物)
[1274] F_bPRXHXTANGDFEEIPEEYL
[1275] SEQ ID NO :220 (修饰的蛭素类似物)
[1276] F_bPRXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1277] SEQ ID NO :221 (修饰的蛭素类似物)
[1278] FPRMHRGGGNGDFEEIPEEYL
[1279] SEQ ID NO :222 (修饰的蛭素类似物)
[1280] FPRMHRGGGNGDFEEIPEEYL
[1281] SEQ ID NO :223 (修饰的蛭素类似物)
[1282] FPRMHRGGGNGDFEEIPEEYL
[1283] SEQ ID NO :224 (修饰的蛭素类似物)
[1284] FPRMHRTGGNGDFEEIPEEYL
[1285] SEQ ID NO :225 (修饰的蛭素类似物)
[1286] FPRMHRTGNGDFEEIPEEYL
[1287] SEQ ID NO :226 (修饰的蛭素类似物)
[1288] FPRMHRTGGGNGDFEEIPEEYL
[1289] SEQ ID NO :227 (修饰的蛭素类似物)
[1290] FPRMHRTAGNGDFEEIPEEYL
[1291] SEQ ID NO :228 (修饰的蛭素类似物)
[1292] FPRMHRTANGDFEEIPEEYL
[1293] SEQ ID NO :229 (修饰的蛭素类似物)
[1294] FPRMHRTAGGNGDFEEIPEEYL
[1295] SEQ ID NO :230 (修饰的蛭素类似物)
[1296] F_bPRMHRGGGNGDFEEIPEEYL
[1297] SEQ ID NO :231 (修饰的蛭素类似物)
[1298] F_bPRMHRGGGNGDFEEIPEEYL
[1299] SEQ ID NO :232 (修饰的蛭素类似物)
[1300] F_bPRMHRGGGNGDFEEIPEEYL
[1301] SEQ ID NO :233 (修饰的蛭素类似物)
[1302] F_bPRMHRTGGGNGDFEEIPEEYL
[1303] SEQ ID NO :234 (修饰的蛭素类似物)
[1304] F_bPRMHRTGNGDFEEIPEEYL
[1305] SEQ ID NO :235 (修饰的蛭素类似物)
[1306] F_bPRMHRTGGGNGDFEEIPEEYL
[1307] SEQ ID NO :236 (修饰的蛭素类似物)
[1308] F_bPRMHRTAGNGDFEEIPEEYL
[1309] SEQ ID NO :237 (修饰的蛭素类似物)
[1310] F_bPRMHRTANGDFEEIPEEYL

- [1311] SEQ ID NO :238 (修饰的蛭素类似物)
[1312] F_DPRMHRTAGGNGDFEEIPEEYL
[1313] SEQ ID NO :239 (修饰的蛭素类似物)
[1314] F_DPRHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1315] SEQ ID NO :240 (修饰的蛭素类似物)
[1316] F_DPRHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1317] SEQ ID NO :241 (修饰的蛭素类似物)
[1318] F_DPRHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1319] SEQ ID NO :242 (修饰的蛭素类似物)
[1320] F_DPRHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1321] SEQ ID NO :243 (修饰的蛭素类似物)
[1322] F_DPRHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1323] SEQ ID NO :244 (修饰的蛭素类似物)
[1324] F_DPRHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1325] SEQ ID NO :245 (修饰的蛭素类似物)
[1326] F_DPRHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1327] SEQ ID NO :246 (修饰的蛭素类似物)
[1328] F_DPRHXTANGDFEEIPEEYL
[1329] SEQ ID NO :247 (修饰的蛭素类似物)
[1330] F_DPRHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1331] SEQ ID NO :248 (修饰的蛭素类似物)
[1332] FPKMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1333] SEQ ID NO :249 (修饰的蛭素类似物)
[1334] FPKMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1335] SEQ ID NO :250 (修饰的蛭素类似物)
[1336] FPKMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1337] SEQ ID NO :252 (修饰的蛭素类似物)
[1338] FPKMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1339] SEQ ID NO :253 (修饰的蛭素类似物)
[1340] FPKMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1341] SEQ ID NO :254 (修饰的蛭素类似物)
[1342] FPKMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1343] SEQ ID NO :255 (修饰的蛭素类似物)
[1344] FPKMHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1345] SEQ ID NO :256 (修饰的蛭素类似物)
[1346] FPKMHKTANGDFEEIPEEYL
[1347] SEQ ID NO :257 (修饰的蛭素类似物)
[1348] FPKMHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1349] SEQ ID NO :258 (修饰的蛭素类似物)

- [1350] F_bPKMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1351] SEQ ID NO :259 (修饰的蛭素类似物)
[1352] F_bPKMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1353] SEQ ID NO :260 (修饰的蛭素类似物)
[1354] F_bPKMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1355] SEQ ID NO :261 (修饰的蛭素类似物)
[1356] F_bPKMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1357] SEQ ID NO :262 (修饰的蛭素类似物)
[1358] F_bPKMHKTGNGDFEEIPEEYL
[1359] SEQ ID NO :263 (修饰的蛭素类似物)
[1360] F_bPKMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1361] SEQ ID NO :264 (修饰的蛭素类似物)
[1362] F_bPKMHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1363] SEQ ID NO :265 (修饰的蛭素类似物)
[1364] F_bPKMHKTANGDFEEIPEEYL
[1365] SEQ ID NO :266 (修饰的蛭素类似物)
[1366] F_bPKMHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1367] SEQ ID NO :267 (修饰的蛭素类似物)
[1368] F_bPKXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1369] SEQ ID NO :268 (修饰的蛭素类似物)
[1370] F_bPKXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1371] SEQ ID NO :269 (修饰的蛭素类似物)
[1372] F_bPKXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1373] SEQ ID NO :270 (修饰的蛭素类似物)
[1374] F_bPKXHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1375] SEQ ID NO :271 (修饰的蛭素类似物)
[1376] F_bPKXHKTGNGDFEEIPEEYL
[1377] SEQ ID NO :272 (修饰的蛭素类似物)
[1378] F_bPKXHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1379] SEQ ID NO :273 (修饰的蛭素类似物)
[1380] F_bPKXHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1381] SEQ ID NO :274 (修饰的蛭素类似物)
[1382] F_bPKXHKTANGDFEEIPEEYL
[1383] SEQ ID NO :275 (修饰的蛭素类似物)
[1384] F_bPKXHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1385] SEQ ID NO :276 (修饰的蛭素类似物)
[1386] F_bPKXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1387] SEQ ID NO :277 (修饰的蛭素类似物)
[1388] F_bPKXHXGGGNGDFEEIPEEYL

- [1389] SEQ ID NO :278 (修饰的蛭素类似物)
[1390] F_bPKXHXGGGNGDFEIIPEEYL
[1391] SEQ ID NO :279 (修饰的蛭素类似物)
[1392] F_bPKXHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1393] SEQ ID NO :280 (修饰的蛭素类似物)
[1394] F_bPKXHXTGNGDFEIIPEEYL
[1395] SEQ ID NO :281 (修饰的蛭素类似物)
[1396] F_bPKXHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1397] SEQ ID NO :282 (修饰的蛭素类似物)
[1398] F_bPKXHXTAGNGDFEIIPEEYL
[1399] SEQ ID NO :283 (修饰的蛭素类似物)
[1400] F_bPKXHXTANGDFEIIPEEYL
[1401] SEQ ID NO :284 (修饰的蛭素类似物)
[1402] F_bPKXHXTAGGNGDFEIIPEEYL
[1403] SEQ ID NO :285 (修饰的蛭素类似物)
[1404] F_bPKXHXGGGNGDFEIIPEEYL
[1405] SEQ ID NO :286 (修饰的蛭素类似物)
[1406] F_bPKXHXGGGNGDFEIIPEEYL
[1407] SEQ ID NO :287 (修饰的蛭素类似物)
[1408] F_bPKXHXGGGNGDFEIIPEEYL
[1409] SEQ ID NO :288 (修饰的蛭素类似物)
[1410] F_bPKXHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1411] SEQ ID NO :289 (修饰的蛭素类似物)
[1412] F_bPKXHXTGNGDFEIIPEEYL
[1413] SEQ ID NO :290 (修饰的蛭素类似物)
[1414] F_bPKXHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1415] SEQ ID NO :291 (修饰的蛭素类似物)
[1416] F_bPKXHXTAGNGDFEIIPEEYL
[1417] SEQ ID NO :292 (修饰的蛭素类似物)
[1418] F_bPKXHXTANGDFEIIPEEYL
[1419] SEQ ID NO :293 (修饰的蛭素类似物)
[1420] F_bPKXHXTAGGNGDFEIIPEEYL
[1421] SEQ ID NO :294 (修饰的蛭素类似物)
[1422] PRMHKGGGNGDFEIIPEEYL
[1423] SEQ ID NO :295 (修饰的蛭素类似物)
[1424] PRMHKGGGNGDFEIIPEEYL
[1425] SEQ ID NO :296 (修饰的蛭素类似物)
[1426] PRMHKGGGNGDFEIIPEEYL
[1427] SEQ ID NO :297 (修饰的蛭素类似物)

- [1428] PRMHKTGGNGDFEEIPEEYL
[1429] SEQ ID NO :298 (修饰的蛭素类似物)
[1430] PRMHKTGGNGDFEEIPEEYL
[1431] SEQ ID NO :299 (修饰的蛭素类似物)
[1432] PRMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1433] SEQ ID NO :300 (修饰的蛭素类似物)
[1434] PRMHKTAGNGDFEEIPEEYL
[1435] SEQ ID NO :301 (修饰的蛭素类似物)
[1436] PRMHKTANGDFEEIPEEYL
[1437] SEQ ID NO :302 (修饰的蛭素类似物)
[1438] PRMHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1439] SEQ ID NO :303 (修饰的蛭素类似物)
[1440] PRXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1441] SEQ ID NO :304 (修饰的蛭素类似物)
[1442] PRXHKGNGDFEEIPEEYL
[1443] SEQ ID NO :305 (修饰的蛭素类似物)
[1444] PRXHKGGGGNGDFEEIPEEYL
[1445] SEQ ID NO :306 (修饰的蛭素类似物)
[1446] PRXHKTGGNGDFEEIPEEYL
[1447] SEQ ID NO :307 (修饰的蛭素类似物)
[1448] PRXHKTGNGDFEEIPEEYL
[1449] SEQ ID NO :308 (修饰的蛭素类似物)
[1450] PRXHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1451] SEQ ID NO :309 (修饰的蛭素类似物)
[1452] PRXHKTAGNGDFEEIPEEYL
[1453] SEQ ID NO :310 (修饰的蛭素类似物)
[1454] PRXHKTANGDFEEIPEEYL
[1455] SEQ ID NO :311 (修饰的蛭素类似物)
[1456] PRXHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1457] SEQ ID NO :312 (修饰的蛭素类似物)
[1458] PRXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1459] SEQ ID NO :313 (修饰的蛭素类似物)
[1460] PRXHKGNGDFEEIPEEYL
[1461] SEQ ID NO :314 (修饰的蛭素类似物)
[1462] PRXHKGGGGNGDFEEIPEEYL
[1463] SEQ ID NO :315 (修饰的蛭素类似物)
[1464] PRXHXTGGNGDFEEIPEEYL
[1465] SEQ ID NO :316 (修饰的蛭素类似物)
[1466] PRXHXTGNGDFEEIPEEYL

- [1467] SEQ ID NO :317 (修饰的蛭素类似物)
[1468] PRXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1469] SEQ ID NO :318 (修饰的蛭素类似物)
[1470] PRXHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1471] SEQ ID NO :319 (修饰的蛭素类似物)
[1472] PRXHXTANGDFEEIPEEYL
[1473] SEQ ID NO :320 (修饰的蛭素类似物)
[1474] PRXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1475] SEQ ID NO :321 (修饰的蛭素类似物)
[1476] PRXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1477] SEQ ID NO :322 (修饰的蛭素类似物)
[1478] PRXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1479] SEQ ID NO :323 (修饰的蛭素类似物)
[1480] PRXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1481] SEQ ID NO :324 (修饰的蛭素类似物)
[1482] PRXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1483] SEQ ID NO :325 (修饰的蛭素类似物)
[1484] PRXHXTGNGDFEEIPEEYL
[1485] SEQ ID NO :326 (修饰的蛭素类似物)
[1486] PRXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1487] SEQ ID NO :327 (修饰的蛭素类似物)
[1488] PRXHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1489] SEQ ID NO :328 (修饰的蛭素类似物)
[1490] PRXHXTANGDFEEIPEEYL
[1491] SEQ ID NO :329 (修饰的蛭素类似物)
[1492] PRXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1493] SEQ ID NO :330 (修饰的蛭素类似物)
[1494] PKXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1495] SEQ ID NO :331 (修饰的蛭素类似物)
[1496] PKXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1497] SEQ ID NO :332 (修饰的蛭素类似物)
[1498] PKXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1499] SEQ ID NO :333 (修饰的蛭素类似物)
[1500] PKXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1501] SEQ ID NO :334 (修饰的蛭素类似物)
[1502] PKXHXTGNGDFEEIPEEYL
[1503] SEQ ID NO :335 (修饰的蛭素类似物)
[1504] PKXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1505] SEQ ID NO :336 (修饰的蛭素类似物)

- [1506] PKXHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1507] SEQ ID NO :337 (修饰的蛭素类似物)
[1508] PKXHXTANGDFEEIPEEYL
[1509] SEQ ID NO :338 (修饰的蛭素类似物)
[1510] PKXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1511] SEQ ID NO :339 (修饰的蛭素类似物)
[1512] PKXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1513] SEQ ID NO :340 (修饰的蛭素类似物)
[1514] PKXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1515] SEQ ID NO :341 (修饰的蛭素类似物)
[1516] PKXHXGGGGNGDFEEIPEEYL
[1517] SEQ ID NO :342 (修饰的蛭素类似物)
[1518] PKXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1519] SEQ ID NO :343 (修饰的蛭素类似物)
[1520] PKXHXTGNGDFEEIPEEYL
[1521] SEQ ID NO :344 (修饰的蛭素类似物)
[1522] PKXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1523] SEQ ID NO :345 (修饰的蛭素类似物)
[1524] PKXHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1525] SEQ ID NO :346 (修饰的蛭素类似物)
[1526] PKXHXTANGDFEEIPEEYL
[1527] SEQ ID NO :347 (修饰的蛭素类似物)
[1528] PKXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1529] SEQ ID NO :348 (修饰的蛭素类似物)
[1530] RMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1531] SEQ ID NO :349 (修饰的蛭素类似物)
[1532] RMHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1533] SEQ ID NO :350 (修饰的蛭素类似物)
[1534] RMHKGGGGNGDFEEIPEEYL
[1535] SEQ ID NO :351 (修饰的蛭素类似物)
[1536] RMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1537] SEQ ID NO :352 (修饰的蛭素类似物)
[1538] RMHKTGNGDFEEIPEEYL
[1539] SEQ ID NO :353 (修饰的蛭素类似物)
[1540] RMHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1541] SEQ ID NO :354 (修饰的蛭素类似物)
[1542] RMHKTAGNGDFEEIPEEYL
[1543] SEQ ID NO :355 (修饰的蛭素类似物)
[1544] RMHKTANGDFEEIPEEYL

- [1545] SEQ ID NO :356 (修饰的蛭素类似物)
[1546] RMHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1547] SEQ ID NO :357 (修饰的蛭素类似物)
[1548] RXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1549] SEQ ID NO :358 (修饰的蛭素类似物)
[1550] RXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1551] SEQ ID NO :359 (修饰的蛭素类似物)
[1552] RXHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1553] SEQ ID NO :360 (修饰的蛭素类似物)
[1554] RXHKTGGNGDFEEIPEEYL
[1555] SEQ ID NO :361 (修饰的蛭素类似物)
[1556] RXHKTGNGDFEEIPEEYL
[1557] SEQ ID NO :362 (修饰的蛭素类似物)
[1558] RXHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1559] SEQ ID NO :363 (修饰的蛭素类似物)
[1560] RXHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1561] SEQ ID NO :364 (修饰的蛭素类似物)
[1562] RXHKTANGDFEEIPEEYL
[1563] SEQ ID NO :365 (修饰的蛭素类似物)
[1564] RXHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1565] SEQ ID NO :366 (修饰的蛭素类似物)
[1566] RXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1567] SEQ ID NO :367 (修饰的蛭素类似物)
[1568] RXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1569] SEQ ID NO :368 (修饰的蛭素类似物)
[1570] RXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1571] SEQ ID NO :369 (修饰的蛭素类似物)
[1572] RXHXTGGNGDFEEIPEEYL
[1573] SEQ ID NO :370 (修饰的蛭素类似物)
[1574] RXHXTGNGDFEEIPEEYL
[1575] SEQ ID NO :371 (修饰的蛭素类似物)
[1576] RXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1577] SEQ ID NO :372 (修饰的蛭素类似物)
[1578] RXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1579] SEQ ID NO :373 (修饰的蛭素类似物)
[1580] RXHXTANGDFEEIPEEYL
[1581] SEQ ID NO :374 (修饰的蛭素类似物)
[1582] RXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1583] SEQ ID NO :375 (修饰的蛭素类似物)

- [1584] RXHXGGGNGDFEEIPEEYL
- [1585] SEQ ID NO :376 (修饰的蛭素类似物)
- [1586] RXHXGGGNGDFEEIPEEYL
- [1587] SEQ ID NO :377 (修饰的蛭素类似物)
- [1588] RXHXGGGNGDFEEIPEEYL
- [1589] SEQ ID NO :378 (修饰的蛭素类似物)
- [1590] RXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
- [1591] SEQ ID NO :379 (修饰的蛭素类似物)
- [1592] RXHXTGNGDFEEIPEEYL
- [1593] SEQ ID NO :380 (修饰的蛭素类似物)
- [1594] RXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
- [1595] SEQ ID NO :381 (修饰的蛭素类似物)
- [1596] RXHXTAGNGDFEEIPEEYL
- [1597] SEQ ID NO :382 (修饰的蛭素类似物)
- [1598] RXHXTANGDFEEIPEEYL
- [1599] SEQ ID NO :383 (修饰的蛭素类似物)
- [1600] RXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
- [1601] SEQ ID NO :384 (修饰的蛭素类似物)
- [1602] KXHXGGGNGDFEEIPEFYL
- [1603] SEQ ID NO :385 (修饰的蛭素类似物)
- [1604] KXHXGGGNGDFEEIPEEYL
- [1605] SEQ ID NO :386 (修饰的蛭素类似物)
- [1606] KXHXGGGNGDFEEIPEEYL
- [1607] SEQ ID NO :387 (修饰的蛭素类似物)
- [1608] KXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
- [1609] SEQ ID NO :388 (修饰的蛭素类似物)
- [1610] KXHXTGNGDFEEIPEEYL
- [1611] SEQ ID NO :389 (修饰的蛭素类似物)
- [1612] KXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
- [1613] SEQ ID NO :390 (修饰的蛭素类似物)
- [1614] KXHXTAGNGDFEEIPEEYL
- [1615] SEQ ID NO :391 (修饰的蛭素类似物)
- [1616] KXHXTANGDFEEIPEEYL
- [1617] SEQ ID NO :392 (修饰的蛭素类似物)
- [1618] KXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
- [1619] SEQ ID NO :393 (修饰的蛭素类似物)
- [1620] KXHXGGGNGDFEEIPEEYL
- [1621] SEQ ID NO :394 (修饰的蛭素类似物)
- [1622] KXHXGGGNGDFEEIPEEYL

- [1623] SEQ ID NO :395 (修饰的蛭素类似物)
[1624] KXHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1625] SEQ ID NO :396 (修饰的蛭素类似物)
[1626] KXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1627] SEQ ID NO :397 (修饰的蛭素类似物)
[1628] KXHXTGNGDFEEIPEEYL
[1629] SEQ ID NO :398 (修饰的蛭素类似物)
[1630] KXHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1631] SEQ ID NO :399 (修饰的蛭素类似物)
[1632] KXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1633] SEQ ID NO :400 (修饰的蛭素类似物)
[1634] KXHXTANGDFEEIPEEYL
[1635] SEQ ID NO :401 (修饰的蛭素类似物)
[1636] KXHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1637] SEQ ID NO :402 (修饰的蛭素类似物)
[1638] MHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1639] SEQ ID NO :403 (修饰的蛭素类似物)
[1640] MHKGGNGDFEEIPEEYL
[1641] SEQ ID NO :404 (修饰的蛭素类似物)
[1642] MHKGGGGNGDFEEIPEEYL
[1643] SEQ ID NO :405 (修饰的蛭素类似物)
[1644] MHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1645] SEQ ID NO :406 (修饰的蛭素类似物)
[1646] MHKTGNGDFEEIPEEYL
[1647] SEQ ID NO :407 (修饰的蛭素类似物)
[1648] MHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1649] SEQ ID NO :408 (修饰的蛭素类似物)
[1650] MHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1651] SEQ ID NO :409 (修饰的蛭素类似物)
[1652] MHKTANGDFEEIPEEYL
[1653] SEQ ID NO :410 (修饰的蛭素类似物)
[1654] MHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1655] SEQ ID NO :411 (修饰的蛭素类似物)
[1656] XHKGGGNGDFEEIPEEYL
[1657] SEQ ID NO :412 (修饰的蛭素类似物)
[1658] XHKGGNGDFEEIPEEYL
[1659] SEQ ID NO :413 (修饰的蛭素类似物)
[1660] XHKGGGGNGDFEEIPEEYL
[1661] SEQ ID NO :414 (修饰的蛭素类似物)

- [1662] XHKTGGNGDFEEIPEEYL
[1663] SEQ ID NO :415 (修饰的蛭素类似物)
[1664] XHKTGGNGDFEEIPEEYL
[1665] SEQ ID NO :416 (修饰的蛭素类似物)
[1666] XHKTGGGNGDFEEIPEEYL
[1667] SEQ ID NO :417 (修饰的蛭素类似物)
[1668] XHKTAGNGDFEEIPEEYL
[1669] SEQ ID NO :418 (修饰的蛭素类似物)
[1670] XHKTANGDFEEIPEEYL
[1671] SEQ ID NO :419 (修饰的蛭素类似物)
[1672] XHKTAGGNGDFEEIPEEYL
[1673] SEQ ID NO :420 (修饰的蛭素类似物)
[1674] XHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1675] SEQ ID NO :421 (修饰的蛭素类似物)
[1676] XHXGGNGDFEEIPEEYL
[1677] SEQ ID NO :422 (修饰的蛭素类似物)
[1678] XHXGGGGNGDFEEIPEEYL
[1679] SEQ ID NO :423 (修饰的蛭素类似物)
[1680] XHXTGGNGDFEEIPEEYL
[1681] SEQ ID NO :424 (修饰的蛭素类似物)
[1682] XHXTGNGDFEEIPEEYL
[1683] SEQ ID NO :425 (修饰的蛭素类似物)
[1684] XHXTGGGNGDFEEIPEEYL
[1685] SEQ ID NO :426 (修饰的蛭素类似物)
[1686] XHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1687] SEQ ID NO :427 (修饰的蛭素类似物)
[1688] XHXTANGDFEEIPEEYL
[1689] SEQ ID NO :428 (修饰的蛭素类似物)
[1690] XHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1691] SEQ ID NO :429 (修饰的蛭素类似物)
[1692] XHXGGGNGDFEEIPEEYL
[1693] SEQ ID NO :430 (修饰的蛭素类似物)
[1694] XHXGGNGDFEEIPEEYL
[1695] SEQ ID NO :431 (修饰的蛭素类似物)
[1696] XHXGGGGNGDFEEIPEEYL
[1697] SEQ ID NO :432 (修饰的蛭素类似物)
[1698] XHXTGGNGDFEEIPEEYL
[1699] SEQ ID NO :433 (修饰的蛭素类似物)
[1700] XHXTGNGDFEEIPEEYL

- [1701] SEQ ID NO :434 (修饰的蛭素类似物)
[1702] XHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1703] SEQ ID NO :435 (修饰的蛭素类似物)
[1704] XHXTAGNGDFEIIPEEYL
[1705] SEQ ID NO :436 (修饰的蛭素类似物)
[1706] XHXTANGDFEIIPEEYL
[1707] SEQ ID NO :437 (修饰的蛭素类似物)
[1708] XHXTAGGNGDFEIIPEEYL
[1709] SEQ ID NO :438 (修饰的蛭素类似物)
[1710] XHXGGGNGDFEIIPEEYL
[1711] SEQ ID NO :439 (修饰的蛭素类似物)
[1712] XHXGGNGDFEIIPEEYL
[1713] SEQ ID NO :440 (修饰的蛭素类似物)
[1714] XHXGGGGNGDFEIIPEEYL
[1715] SEQ ID NO :441 (修饰的蛭素类似物)
[1716] XHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1717] SEQ ID NO :442 (修饰的蛭素类似物)
[1718] XHXTGNGDFEIIPEEYL
[1719] SEQ ID NO :443 (修饰的蛭素类似物)
[1720] XHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1721] SEQ ID NO :444 (修饰的蛭素类似物)
[1722] XHXTAGNGDFEIIPEEYL
[1723] SEQ ID NO :445 (修饰的蛭素类似物)
[1724] XHXTANGDFEIIPEEYL
[1725] SEQ ID NO :446 (修饰的蛭素类似物)
[1726] XHXTAGGNGDFEIIPEEYL
[1727] SEQ ID NO :447 (修饰的蛭素类似物)
[1728] XHXGGGNGDFEIIPEEYL
[1729] SEQ ID NO :448 (修饰的蛭素类似物)
[1730] XHXGGNGDFEIIPEEYL
[1731] SEQ ID NO :449 (修饰的蛭素类似物)
[1732] XHXGGGGNGDFEIIPEEYL
[1733] SEQ ID NO :450 (修饰的蛭素类似物)
[1734] XHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1735] SEQ ID NO :451 (修饰的蛭素类似物)
[1736] XHXTGNGDFEIIPEEYL
[1737] SEQ ID NO :452 (修饰的蛭素类似物)
[1738] XHXTGGGNGDFEIIPEEYL
[1739] SEQ ID NO :453 (修饰的蛭素类似物)

- [1740] XHXTAGNGDFEEIPEEYL
[1741] SEQ ID NO :454 (修饰的蛭素类似物)
[1742] XHXTANGDFEEIPEEYL
[1743] SEQ ID NO :455 (修饰的蛭素类似物)
[1744] XHXTAGGNGDFEEIPEEYL
[1745] SEQ ID NO :456 (修饰的蛭素类似物)
[1746] FPRMHKGGGNGDYEPIPEEA
[1747] SEQ ID NO :457 (修饰的蛭素类似物)
[1748] FPRMHKGGGNGDYEPIPEEA
[1749] SEQ ID NO :458 (修饰的蛭素类似物)
[1750] FPRMHKGGGNGDYEPIPEEA
[1751] SEQ ID NO :459 (修饰的蛭素类似物)
[1752] FPRMHKTGGGNGDYEPIPEEA
[1753] SEQ ID NO :460 (修饰的蛭素类似物)
[1754] FPRMHKTGGGNGDYEPIPEEA
[1755] SEQ ID NO :461 (修饰的蛭素类似物)
[1756] FPRMHKTGGGNGDYEPIPEEA
[1757] SEQ ID NO :462 (修饰的蛭素类似物)
[1758] FPRMHKTAGGNGDYEPIPEEA
[1759] SEQ ID NO :463 (修饰的蛭素类似物)
[1760] FPRMHKTANGDYEPIPEEA
[1761] SEQ ID NO :464 (修饰的蛭素类似物)
[1762] FPRMHKTAGGNGDYEPIPEEA
[1763] SEQ ID NO :465 (修饰的蛭素类似物)
[1764] F_bPRMHKGGGNGDYEPIPEEA
[1765] SEQ ID NO :466 (修饰的蛭素类似物)
[1766] F_bPRMHKGGGNGDYEPIPEEA
[1767] SEQ ID NO :467 (修饰的蛭素类似物)
[1768] F_bPRMHKGGGNGDYEPIPEEA
[1769] SEQ ID NO :468 (修饰的蛭素类似物)
[1770] F_bPRMHKTGGGNGDYEPIPEEA
[1771] SEQ ID NO :469 (修饰的蛭素类似物)
[1772] F_bPRMHKTGGGNGDYEPIPEEA
[1773] SEQ ID NO :470 (修饰的蛭素类似物)
[1774] F_bPRMHKTGGGNGDYEPIPEEA
[1775] SEQ ID NO :471 (修饰的蛭素类似物)
[1776] F_bPRMHKTAGGNGDYEPIPEEA
[1777] SEQ ID NO :472 (修饰的蛭素类似物)
[1778] F_bPRMHKTANGDYEPIPEEA

- [1779] SEQ ID NO :473 (修饰的蛭素类似物)
[1780] F_bPRMHKTAGGNGDYEPIPEEA
[1781] SEQ ID NO :474 (修饰的蛭素类似物)
[1782] F_bPRXHKGGGNGDYEPIPEEA
[1783] SEQ ID NO :475 (修饰的蛭素类似物)
[1784] F_bPRXHKGNGDYEPIPEE
[1785] SEQ ID NO :476 (修饰的蛭素类似物)
[1786] F_bPRXHKGGGNGDYEPIPEEA
[1787] SEQ ID NO :477 (修饰的蛭素类似物)
[1788] F_bPRXHKTGGNGDYEPIPEEA
[1789] SEQ ID NO :478 (修饰的蛭素类似物)
[1790] F_bPRXHKTGNGDYEPIPEEA
[1791] SEQ ID NO :479 (修饰的蛭素类似物)
[1792] F_bPRXHKTGGGNGDFYEPIPEEA
[1793] SEQ ID NO :480 (修饰的蛭素类似物)
[1794] F_bPRXHKTAGNGDYEPIPEEA
[1795] SEQ ID NO :481 (修饰的蛭素类似物)
[1796] F_bPRXHKTANGDYEPIPEEA
[1797] SEQ ID NO :482 (修饰的蛭素类似物)
[1798] F_bPRXHKTAGGNGDYEPIPEEA
[1799] SEQ ID NO :483 (修饰的蛭素类似物)
[1800] F_bPRHXGGGNGDYEPIPEEA
[1801] SEQ ID NO :484 (修饰的蛭素类似物)
[1802] F_bPRHXGGNGDYEPIPEEA
[1803] SEQ ID NO :485 (修饰的蛭素类似物)
[1804] F_bPRHXGGGGNGDYEPIPEEA
[1805] SEQ ID NO :486 (修饰的蛭素类似物)
[1806] F_bPRXHXTGGNGDYEPIPEEA
[1807] SEQ ID NO :487 (修饰的蛭素类似物)
[1808] F_bPRXHXTGNGDYEPIPEEA
[1809] SEQ ID NO :488 (修饰的蛭素类似物)
[1810] F_bPRXHXTGGGNGDYEPIPEEA
[1811] SEQ ID NO :489 (修饰的蛭素类似物)
[1812] F_bPRXHXTAGNGDYEPIPEEA
[1813] SEQ ID NO :490 (修饰的蛭素类似物)
[1814] F_bPRXHXTANGDYEPIPEEA
[1815] SEQ ID NO :491 (修饰的蛭素类似物)
[1816] F_bPRXHXTAGGNGDYEPIPEEA
[1817] SEQ ID NO :492 (修饰的蛭素类似物)

- [1818] F_DPRXHXGGGNGDYEPIPEEA
[1819] SEQ ID NO :493 (修饰的蛭素类似物)
[1820] F_DPRXHXGGGNGDYEPIPEEA
[1821] SEQ ID NO :494 (修饰的蛭素类似物)
[1822] F_DPRXHXGGGNGDYEPIPEEA
[1823] SEQ ID NO :495 (修饰的蛭素类似物)
[1824] F_DPRXHXTGGGNGDYEPIPEEA
[1825] SEQ ID NO :496 (修饰的蛭素类似物)
[1826] F_DPRXHXTGNGDYEPIPEEA
[1827] SEQ ID NO :497 (修饰的蛭素类似物)
[1828] F_DPRXHXTGGGNGDYEPIPEEA
[1829] SEQ ID NO :498 (修饰的蛭素类似物)
[1830] F_DPRXHXTAGNGDYEPIPEEA
[1831] SEQ ID NO :499 (修饰的蛭素类似物)
[1832] F_DPRXHXTANGDYEPIPEEA
[1833] SEQ ID NO :500 (修饰的蛭素类似物)
[1834] F_DPRXHXTAGGNGDYEPIPEEA
[1835] SEQ ID NO :501 (修饰的蛭素类似物)
[1836] F_DPKXHXGGGNGDYEPIPEEA
[1837] SEQ ID NO :502 (修饰的蛭素类似物)
[1838] F_DPKXHXGGGNGDYEPIPEEA
[1839] SEQ ID NO :503 (修饰的蛭素类似物)
[1840] F_DPKXHXGGGNGDYEPIPEEA
[1841] SEQ ID NO :504 (修饰的蛭素类似物)
[1842] F_DPKXHXTGGGNGDYEPIPEEA
[1843] SEQ ID NO :505 (修饰的蛭素类似物)
[1844] F_DPKXHXTGNGDYEPIPEEA
[1845] SEQ ID NO :506 (修饰的蛭素类似物)
[1846] F_DPKXHXTGGGNGDYEPIPEEA
[1847] SEQ ID NO :507 (修饰的蛭素类似物)
[1848] F_DPKXHXTAGNGDYEPIPEEA
[1849] SEQ ID NO :508 (修饰的蛭素类似物)
[1850] F_DPKXHXTANGDYEPIPEEA
[1851] SEQ ID NO :509 (修饰的蛭素类似物)
[1852] F_DPKXHXTAGGNGDYEPIPEEA
[1853] SEQ ID NO :510 (修饰的蛭素类似物)
[1854] F_DPKXHXGGGNGDYEPIPEEA
[1855] SEQ ID NO :511 (修饰的蛭素类似物)
[1856] F_DPKXHXGGGNGDYEPIPEEA

- [1857] SEQ ID NO :512 (修饰的蛭素类似物)
[1858] F_DPKXHXGGGNGDYEP_IPEEA
[1859] SEQ ID NO :513 (修饰的蛭素类似物)
[1860] F_DPKXHXTGGNGDYEP_IPEEA
[1861] SEQ ID NO :514 (修饰的蛭素类似物)
[1862] F_DPKXHXTGNGDYEP_IPEEA
[1863] SEQ ID NO :515 (修饰的蛭素类似物)
[1864] F_DPKXHXTGGGNGDYEP_IPEEA
[1865] SEQ ID NO :516 (修饰的蛭素类似物)
[1866] F_DPKXHXTAGNGDYEP_IPEEA
[1867] SEQ ID NO :517 (修饰的蛭素类似物)
[1868] F_DPKXHXTANGDYEP_IPEEA
[1869] SEQ ID NO :518 (修饰的蛭素类似物)
[1870] F_DPKXHXTAGGNGDYEP_IPEEA
[1871] SEQ ID NO :519 (修饰的蛭素类似物)
[1872] PKXHXGGGNGDYEP_IPEEA
[1873] SEQ ID NO :520 (修饰的蛭素类似物)
[1874] PKXHXGGNGDYEP_IPEEA
[1875] SEQ ID NO :521 (修饰的蛭素类似物)
[1876] PKXHXGGGNGDYEP_IPEEA
[1877] SEQ ID NO :522 (修饰的蛭素类似物)
[1878] PKXHXTGGNGDYEP_IPEEA
[1879] SEQ ID NO :523 (修饰的蛭素类似物)
[1880] PKXHXTGNGDYEP_IPEEA
[1881] SEQ ID NO :524 (修饰的蛭素类似物)
[1882] PKXHXTGGGNGDYEP_IPEEA
[1883] SEQ ID NO :525 (修饰的蛭素类似物)
[1884] PKXHXTAGNGDYEP_IPEEA
[1885] SEQ ID NO :526 (修饰的蛭素类似物)
[1886] PKXHXTANGDYEP_IPEEA
[1887] SEQ ID NO :527 (修饰的蛭素类似物)
[1888] PKXHXTAGGNGDYEP_IPEEA
[1889] SEQ ID NO :528 (修饰的蛭素类似物)
[1890] PKXHXGGGNGDYEP_IPEEA
[1891] SEQ ID NO :529 (修饰的蛭素类似物)
[1892] PKXHXGGNGDYEP_IPEEA
[1893] SEQ ID NO :530 (修饰的蛭素类似物)
[1894] PKXHXGGGNGDYEP_IPEEA
[1895] SEQ ID NO :531 (修饰的蛭素类似物)

- [1896] PKXHXTGGNGDYEPIPEEA
- [1897] SEQ ID NO :532 (修饰的蛭素类似物)
- [1898] PKXHXTGGNGDYEPIPEEA
- [1899] SEQ ID NO :533 (修饰的蛭素类似物)
- [1900] PKXHXTGGGNGDYEPIPEEA
- [1901] SEQ ID NO :534 (修饰的蛭素类似物)
- [1902] PKXHXTAGNGDYEPIPEEA
- [1903] SEQ ID NO :536 (修饰的蛭素类似物)
- [1904] PKXHXTANGDYEPIPEEA
- [1905] SEQ ID NO :537 (修饰的蛭素类似物)
- [1906] PKXHXTAGGNGDYEPIPEEA
- [1907] SEQ ID NO :538 (修饰的蛭素类似物)
- [1908] KXHXGGGNGDYEPIPEEA
- [1909] SEQ ID NO :539 (修饰的蛭素类似物)
- [1910] KXHXGGNGDYEPIPEEA
- [1911] SEQ ID NO :540 (修饰的蛭素类似物)
- [1912] KXHXGGGGNGDYEPIPEEA
- [1913] SEQ ID NO :541 (修饰的蛭素类似物)
- [1914] KXHXTGGNGDYEPIPEEA
- [1915] SEQ ID NO :542 (修饰的蛭素类似物)
- [1916] KXHXTGNGDYEPIPEEA
- [1917] SEQ ID NO :543 (修饰的蛭素类似物)
- [1918] KXHXTGGGNGDYEPIPEEA
- [1919] SEQ ID NO :544 (修饰的蛭素类似物)
- [1920] KXHXTAGNGDYEPIPEEA
- [1921] SEQ ID NO :545 (修饰的蛭素类似物)
- [1922] KXHXTANGDYEPIPEEA
- [1923] SEQ ID NO :546 (修饰的蛭素类似物)
- [1924] KXHXTAGGNGDYEPIPEEA
- [1925] SEQ ID NO :547 (修饰的蛭素类似物)
- [1926] KXHXGGGNGDYEPIPEEA
- [1927] SEQ ID NO :548 (修饰的蛭素类似物)
- [1928] KXHXGGNGDYEPIPEEA
- [1929] SEQ ID NO :549 (修饰的蛭素类似物)
- [1930] KXHXGGGGNGDYEPIPEEA
- [1931] SEQ ID NO :550 (修饰的蛭素类似物)
- [1932] KXHXTGGNGDYEPIPEEA
- [1933] SEQ ID NO :551 (修饰的蛭素类似物)
- [1934] KXHXTGNGDYEPIPEEA

- [1935] SEQ ID NO :552 (修饰的蛭素类似物)
[1936] KXHXTGGGNGDYEPIPEEA
[1937] SEQ ID NO :553 (修饰的蛭素类似物)
[1938] KXHXTAGNGDYEPIPEEA
[1939] SEQ ID NO :554 (修饰的蛭素类似物)
[1940] KXHXTANGDYEPIPEEA
[1941] SEQ ID NO :555 (修饰的蛭素类似物)
[1942] KXHXTAGGNGDYEPIPEEA
[1943] SEQ ID NO :556 (修饰的蛭素类似物)
[1944] FPRMHKGGGAPPFDFEAIPEEYL
[1945] SEQ ID NO :557 (修饰的蛭素类似物)
[1946] FPRMHKGGAPPFDFEAIPEEYL
[1947] SEQ ID NO :558 (修饰的蛭素类似物)
[1948] FPRMHKGGGAPPFDFEAIPEEYL
[1949] SEQ ID NO :559 (修饰的蛭素类似物)
[1950] FPRMHKTGGAPPFDFEAIPEEYL
[1951] SEQ ID NO :560 (修饰的蛭素类似物)
[1952] FPRMHKTGAPPFDFEAIPEEYL
[1953] SEQ ID NO :561 (修饰的蛭素类似物)
[1954] FPRMHKTGGGAPPFDFEAIPEEYL
[1955] SEQ ID NO :562 (修饰的蛭素类似物)
[1956] FPRMHKTAGAPPFDFEAIPEEYL
[1957] SEQ ID NO :563 (修饰的蛭素类似物)
[1958] FPRMHKTAAPPFDFEAIPEEYL
[1959] SEQ ID NO :564 (修饰的蛭素类似物)
[1960] FPRMHKTAGGAPPFDFEAIPEEYL
[1961] SEQ ID NO :565 (修饰的蛭素类似物)
[1962] F_bPRMHKGGGAPPFDFEAIPEEYL
[1963] SEQ ID NO :566 (修饰的蛭素类似物)
[1964] F_bPRMHKGGAPPFDFEAIPEEYL
[1965] SEQ ID NO :567 (修饰的蛭素类似物)
[1966] F_bPRMHKGGGGAPPFDFEAIPEEYL
[1967] SEQ ID NO :568 (修饰的蛭素类似物)
[1968] F_bPRMHKTGGAPPFDFEAIPEEYL
[1969] SEQ ID NO :569 (修饰的蛭素类似物)
[1970] F_bPRMHKTGAPPFDFEAIPEEYL
[1971] SEQ ID NO :570 (修饰的蛭素类似物)
[1972] F_bPRMHKTGGGAPPFDFEAIPEEYL
[1973] SEQ ID NO :571 (修饰的蛭素类似物)

- [1974] F_bPRMHKTAGAPPFDFEAIPPEYL
[1975] SEQ ID NO :572 (修饰的蛭素类似物)
[1976] F_bPRMHKTAAPPFDFEAIPPEYL
[1977] SEQ ID NO :573 (修饰的蛭素类似物)
[1978] F_bPRMHKTAGGAPPFDFEAIPPEYL
[1979] SEQ ID NO :574 (修饰的蛭素类似物)
[1980] F_bPRXHKGGGAPPFDFEAIPPEYL
[1981] SEQ ID NO :575 (修饰的蛭素类似物)
[1982] F_bPRXHKGGAAPPFDFEAIPPEYL
[1983] SEQ ID NO :576 (修饰的蛭素类似物)
[1984] F_bPRXHKGGGGAPPFDFEAIPPEYL
[1985] SEQ ID NO :577 (修饰的蛭素类似物)
[1986] F_bPRXHKTGGAPPFDFEAIPPEYL
[1987] SEQ ID NO :578 (修饰的蛭素类似物)
[1988] F_bPRXHKTGAPPFDFEAIPPEYL
[1989] SEQ ID NO :579 (修饰的蛭素类似物)
[1990] F_bPRXHKTGGGAPPFDFEAIPPEYL
[1991] SEQ ID NO :580 (修饰的蛭素类似物)
[1992] F_bPRXHKTAGAPPFDFEAIPPEYL
[1993] SEQ ID NO :581 (修饰的蛭素类似物)
[1994] F_bPRXHKTAAPPFDFEAIPPEYL
[1995] SEQ ID NO :582 (修饰的蛭素类似物)
[1996] F_bPRXHKTAGAPPFDFEAIPPEYL
[1997] SEQ ID NO :583 (修饰的蛭素类似物)
[1998] F_bPRXHGGGAPPFDFEAIPPEYL
[1999] SEQ ID NO :584 (修饰的蛭素类似物)
[2000] F_bPRXHGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2001] SEQ ID NO :585 (修饰的蛭素类似物)
[2002] F_bPRXHGGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2003] SEQ ID NO :586 (修饰的蛭素类似物)
[2004] F_bPRXHXTGGAPPFDFEAIPPEYL
[2005] SEQ ID NO :587 (修饰的蛭素类似物)
[2006] F_bPRXHXTGAPPFDFEAIPPEYL
[2007] SEQ ID NO :588 (修饰的蛭素类似物)
[2008] F_bPRXHXTGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2009] SEQ ID NO :589 (修饰的蛭素类似物)
[2010] F_bPRXHXTAGAPPFDFEAIPPEYL
[2011] SEQ ID NO :590 (修饰的蛭素类似物)
[2012] F_bPRXHXTAAPPFDFEAIPPEYL

- [2013] SEQ ID NO :591 (修饰的蛭素类似物)
[2014] F_bPRXHXTAGGAPPFDFEAIPPEYL
[2015] F_bPRHXGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2016] SEQ ID NO :592 (修饰的蛭素类似物)
[2017] F_bPRHXGGAPPFDFEAIPPEYL
[2018] SEQ ID NO :593 (修饰的蛭素类似物)
[2019] F_bPRHXGGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2020] SEQ ID NO :594 (修饰的蛭素类似物)
[2021] F_bPRXHXTGGAPPFDFEAIPPEYL
[2022] SEQ ID NO :595 (修饰的蛭素类似物)
[2023] F_bPRXHXTGAPPFDFEAIPPEYL
[2024] SEQ ID NO :596 (修饰的蛭素类似物)
[2025] F_bPRXHXTGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2026] SEQ ID NO :597 (修饰的蛭素类似物)
[2027] F_bPRXHXTAGAPPFDFEAIPPEYL
[2028] SEQ ID NO :598 (修饰的蛭素类似物)
[2029] F_bPRXHXTAAPPFDFEAIPPEYL
[2030] SEQ ID NO :599 (修饰的蛭素类似物)
[2031] F_bPRXHXTAGGAPPFDFEAIPPEYL
[2032] SEQ ID NO :600 (修饰的蛭素类似物)
[2033] F_bPKXHXGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2034] SEQ ID NO :601 (修饰的蛭素类似物)
[2035] F_bPKXHXGGAPPFDFEAIPPEYL
[2036] SEQ ID NO :602 (修饰的蛭素类似物)
[2037] F_bPKXHXGGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2038] SEQ ID NO :603 (修饰的蛭素类似物)
[2039] F_bPKXHXTGGAPPFDFEAIPPEYL
[2040] SEQ ID NO :604 (修饰的蛭素类似物)
[2041] F_bPKXHXTGAPPFDFEAIPPEYL
[2042] SEQ ID NO :605 (修饰的蛭素类似物)
[2043] F_bPKXHXTGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2044] SEQ ID NO :606 (修饰的蛭素类似物)
[2045] F_bPKXHXTAGAPPFDFEAIPPEYL
[2046] SEQ ID NO :607 (修饰的蛭素类似物)
[2047] F_bPKXHXTAAPPFDFEAIPPEYL
[2048] SEQ ID NO :608 (修饰的蛭素类似物)
[2049] F_bPKXHXTAGGAPPFDFEAIPPEYL
[2050] SEQ ID NO :609 (修饰的蛭素类似物)
[2051] F_bPKXHXGGGAPPFDFEAIPPEYL

- [2052] SEQ ID NO :610 (修饰的蛭素类似物)
[2053] F_DPKXHXGGAPPFDFEAIPPEYL
[2054] SEQ ID NO :611 (修饰的蛭素类似物)
[2055] F_DPKXHXGGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2056] SEQ ID NO :612 (修饰的蛭素类似物)
[2057] F_DPKXHXTGGAPPFDFEAIPPEYL
[2058] SEQ ID NO :613 (修饰的蛭素类似物)
[2059] F_DPKXHXTGAPPFDFEAIPPEYL
[2060] SEQ ID NO :614 (修饰的蛭素类似物)
[2061] F_DPKXHXTGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2062] SEQ ID NO :615 (修饰的蛭素类似物)
[2063] F_DPKXHXTAGAPPFDFEAIPPEYL
[2064] SEQ ID NO :616 (修饰的蛭素类似物)
[2065] F_DPKXHXTAAPPFDFEAIPPEYL
[2066] SEQ ID NO :617 (修饰的蛭素类似物)
[2067] F_DPKXHXTAGGAPPFDFEAIPPEYL
[2068] SEQ ID NO :618 (修饰的蛭素类似物)
[2069] PKXHXGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2070] SEQ ID NO :619 (修饰的蛭素类似物)
[2071] PKXHXGGAPPFDFEAIPPEYL
[2072] SEQ ID NO :620 (修饰的蛭素类似物)
[2073] PKXHXGGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2074] SEQ ID NO :621 (修饰的蛭素类似物)
[2075] PKXHXTGGAPPFDFEAIPPEYL
[2076] SEQ ID NO :622 (修饰的蛭素类似物)
[2077] PKXHXTGAPPFDFEAIPPEYL
[2078] SEQ ID NO :623 (修饰的蛭素类似物)
[2079] PKXHXTGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2080] SEQ ID NO :624 (修饰的蛭素类似物)
[2081] PKXHXTAGAPPFDFEAIPPEYL
[2082] SEQ ID NO :625 (修饰的蛭素类似物)
[2083] PKXHXTAAPPFDFEAIPPEYL
[2084] SEQ ID NO :626 (修饰的蛭素类似物)
[2085] PKXHXTAGGAPPFDFEAIPPEYL
[2086] SEQ ID NO :627 (修饰的蛭素类似物)
[2087] PKXHXGGGAPPFDFEAIPPEYL
[2088] SEQ ID NO :628 (修饰的蛭素类似物)
[2089] PKXHXGGAPPFDFEAIPPEYL
[2090] SEQ ID NO :629 (修饰的蛭素类似物)

- [2091] PKXHXGGGAPPFDFAIPEEYL
[2092] SEQ ID NO :630 (修饰的蛭素类似物)
[2093] PKXHXTGGAPPFDFAIPEEYL
[2094] SEQ ID NO :631 (修饰的蛭素类似物)
[2095] PKXHXTGAPPFDFAIPEEYL
[2096] SEQ ID NO :632 (修饰的蛭素类似物)
[2097] PKXHXTGGGAPPFDFAIPEEYL
[2098] SEQ ID NO :633 (修饰的蛭素类似物)
[2099] PKXHXTAGAPPFDFAIPEEYL
[2100] SEQ ID NO :634 (修饰的蛭素类似物)
[2101] PKXHXTAAPPFDFAIPEEYL
[2102] SEQ ID NO :635 (修饰的蛭素类似物)
[2103] PKXHXTAGGAPPFDFAIPEEYL
[2104] SEQ ID NO :636 (修饰的蛭素类似物)
[2105] PKXHXGGGAPPFDFAIPEEYL
[2106] SEQ ID NO :637 (修饰的蛭素类似物)
[2107] PKXHXGGAPPFDFAIPEEYL
[2108] SEQ ID NO :638 (修饰的蛭素类似物)
[2109] PKXHXGGGAPPFDFAIPEEYL
[2110] SEQ ID NO :639 (修饰的蛭素类似物)
[2111] PKXHXTGGAPPFDFAIPEEYL
[2112] SEQ ID NO :640 (修饰的蛭素类似物)
[2113] PKXHXTGAPPFDFAIPEEYL
[2114] SEQ ID NO :641 (修饰的蛭素类似物)
[2115] PKXHXTGGGAPPFDFAIPEEYL
[2116] SEQ ID NO :642 (修饰的蛭素类似物)
[2117] PKXHXTAGAPPFDFAIPEEYL
[2118] SEQ ID NO :643 (修饰的蛭素类似物)
[2119] PKXHXTAAPPFDFAIPEEYL
[2120] SEQ ID NO :644 (修饰的蛭素类似物)
[2121] PKXHXTAGGAPPFDFAIPEEYL
[2122] SEQ ID NO :645 (修饰的蛭素类似物)
[2123] PKXHXGGGAPPFDFAIPEEYL
[2124] SEQ ID NO :646 (修饰的蛭素类似物)
[2125] PKXHXGGAPPFDFAIPEEYL
[2126] SEQ ID NO :647 (修饰的蛭素类似物)
[2127] PKXHXGGGAPPFDFAIPEEYL
[2128] SEQ ID NO :648 (修饰的蛭素类似物)
[2129] PKXHXTGGAPPFDFAIPEEYL

- [2130] SEQ ID NO :649 (修饰的蛭素类似物)
[2131] PKXHXTGAPPDFEAIPEEYL
[2132] SEQ ID NO :650 (修饰的蛭素类似物)
[2133] PKXHXTGGGAPPDFEAIPEEYL
[2134] SEQ ID NO :651 (修饰的蛭素类似物)
[2135] PKXHXTAGAPPDFEAIPEEYL
[2136] SEQ ID NO :652 (修饰的蛭素类似物)
[2137] PKXHXTAAPPDFEAIPEEYL
[2138] SEQ ID NO :653 (修饰的蛭素类似物)
[2139] PKXHXTAGGAPPDFEAIPEEYL
[2140] SEQ ID NO :654 (修饰的蛭素类似物)
[2141] KXHXGGGAPPDFEAIPEEYL
[2142] SEQ ID NO :655 (修饰的蛭素类似物)
[2143] KXHXGGAPPDFEAIPEEYL
[2144] SEQ ID NO :656 (修饰的蛭素类似物)
[2145] KXHXGGGGAPPDFEAIPEEYL
[2146] SEQ ID NO :657 (修饰的蛭素类似物)
[2147] KXHXTGGAPPDFEAIPEEYL
[2148] SEQ ID NO :658 (修饰的蛭素类似物)
[2149] KXHXTGAPPDFEAIPEEYL
[2150] SEQ ID NO :659 (修饰的蛭素类似物)
[2151] KXHXTGGGAPPDFEAIPEEYL
[2152] SEQ ID NO :660 (修饰的蛭素类似物)
[2153] KXHXTAGAPPDFEAIPEEYL
[2154] SEQ ID NO :661 (修饰的蛭素类似物)
[2155] KXHXTAAPPDFEAIPEEYL
[2156] SEQ ID NO :662 (修饰的蛭素类似物)
[2157] KXHXTAGGAPPDFEAIPEEYL
[2158] SEQ ID NO :663 (修饰的蛭素类似物)
[2159] KXHXGGGAPPDFEAIPEEYL
[2160] SEQ ID NO :664 (修饰的蛭素类似物)
[2161] KXHXGGAPPDFEAIPEEYL
[2162] SEQ ID NO :665 (修饰的蛭素类似物)
[2163] KXHXGGGGAPPDFEAIPEEYL
[2164] SEQ ID NO :666 (修饰的蛭素类似物)
[2165] KXHXTGGAPPDFEAIPEEYL
[2166] SEQ ID NO :667 (修饰的蛭素类似物)
[2167] KXHXTGAPPDFEAIPEEYL
[2168] SEQ ID NO :668 (修饰的蛭素类似物)

- [2169] KXHXTGGGAPPFDFEAIPEEYL
[2170] SEQ ID NO :669 (修饰的蛭素类似物)
[2171] KXHXTAGAPPFDFEAIPEEYL
[2172] SEQ ID NO :670 (修饰的蛭素类似物)
[2173] KXHXTAAPPDFEAIPEEYL
[2174] SEQ ID NO :671 (修饰的蛭素类似物)
[2175] KXHXTAGGAPPFDFEAIPEEYL
[2176] SEQ ID NO :672 (修饰的蛭素类似物)
[2177] KHXHGGGAPPFDFEAIPEEYL
[2178] SEQ ID NO :673 (修饰的蛭素类似物)
[2179] KHXHGGAPPFDFEAIPEEYL
[2180] SEQ ID NO :674 (修饰的蛭素类似物)
[2181] KHXHGGGGAPPFDFEAIPEEYL
[2182] SEQ ID NO :675 (修饰的蛭素类似物)
[2183] KXHXTGGAPPFDFEAIPEEYL
[2184] SEQ ID NO :676 (修饰的蛭素类似物)
[2185] KXHXTGAPPFDFEAIPEEYL
[2186] SEQ ID NO :677 (修饰的蛭素类似物)
[2187] KXHXTGGGAPPFDFEAIPEEYL
[2188] SEQ ID NO :678 (修饰的蛭素类似物)
[2189] KXHXTAGAPPFDFEAIPEEYL
[2190] SEQ ID NO :679 (修饰的蛭素类似物)
[2191] KXHXTAAPPDFEAIPEEYL
[2192] SEQ ID NO :680 (修饰的蛭素类似物)
[2193] KXHXTAGGAPPFDFEAIPEEYL
[2194] SEQ ID NO :681 (修饰的蛭素类似物)
[2195] KHXHGGGAPPFDFEAIPEEYL
[2196] SEQ ID NO :682 (修饰的蛭素类似物)
[2197] KHXHGGAPPFDFEAIPEEYL
[2198] SEQ ID NO :683 (修饰的蛭素类似物)
[2199] KHXHGGGGAPPFDFEAIPEEYL
[2200] SEQ ID NO :684 (修饰的蛭素类似物)
[2201] KXHXTGGAPPFDFEAIPEEYL
[2202] SEQ ID NO :685 (修饰的蛭素类似物)
[2203] KXHXTGAPPFDFEAIPEEYL
[2204] SEQ ID NO :686 (修饰的蛭素类似物)
[2205] KXHXTGGGAPPFDFEAIPEEYL
[2206] SEQ ID NO :687 (修饰的蛭素类似物)
[2207] KXHXTAGAPPFDFEAIPEEYL

- [2208] SEQ ID NO :688 (修饰的蛭素类似物)
[2209] KXHXTAAPPFDFEAIPEEYL
[2210] SEQ ID NO :689 (修饰的蛭素类似物)
[2211] KXHXTAGGAPPFDFEAIPEEYL
[2212] SEQ ID NO :690 (修饰的蛭素)
[2213] FPRMHKGNGDFEEIPEEDILN
[2214] SEQ ID NO :691 (修饰的蛭素)
[2215] FPRMHKGGNGDFEEIPEEDILN
[2216] SEQ ID NO :692 (修饰的蛭素)
[2217] FPRMHKGGGNGDFEEIPEEDILN
[2218] SEQ ID NO :693 (修饰的蛭素)
[2219] FPRMHKGNGDFEEIPDEDILN
[2220] SEQ ID NO :694 (修饰的蛭素)
[2221] FPRMHKGGNGDFEEIPDEDILN
[2222] SEQ ID NO :695 (修饰的蛭素)
[2223] FPRMHKGGGNGDFEEIPDEDILN
[2224] SEQ ID NO :696 (修饰的蛭素)
[2225] FPRMHKGNGDFEEIPEAYDE
[2226] SEQ ID NO :697 (修饰的蛭素)
[2227] FPRMHKGGNGDFEEIPEAYDE
[2228] SEQ ID NO :698 (修饰的蛭素)
[2229] FPRMHKGGGNGDFEEIPEAYDE
[2230] SEQ ID NO :699 (修饰的蛭素)
[2231] FPRMHKGNGDFEAIPEAYDE
[2232] SEQ ID NO :700 (修饰的蛭素)
[2233] FPRMHKGGNGDFEAIPEAYDE
[2234] SEQ ID NO :701 (修饰的蛭素)
[2235] FPRMHKGGGNGDFEAIPEAYDE
[2236] SEQ ID NO :702 (修饰的蛭素)
[2237] FPRMHKGNGDFEPIPEAYDE
[2238] SEQ ID NO :703 (修饰的蛭素)
[2239] FPRMHKGGNGDFEPIPEAYDE
[2240] SEQ ID NO :704 (修饰的蛭素)
[2241] FPRMHKGGGNGDFEPIPEAYDE
[2242] SEQ ID NO :705 (修饰的蛭素)
[2243] FPRMHKGNGDFEEFPEAYDE
[2244] SEQ ID NO :706 (修饰的蛭素)
[2245] FPRMHKGGNGDFEEFPEAYDE
[2246] SEQ ID NO :707 (修饰的蛭素)

- [2247] FPRMHKGGNGDFEEFPEAYDE
[2248] SEQ ID NO :708 (修饰的蛭素)
[2249] FPRMHKGGNGDFEAFPEAYDE
[2250] SEQ ID NO :709 (修饰的蛭素)
[2251] FPRMHKGGNGDFEAFPEAYDE
[2252] SEQ ID NO :710 (修饰的蛭素)
[2253] FPRMHKGGNGDFEAFPEAYDE
[2254] SEQ ID NO :711 (修饰的蛭素)
[2255] FPRMHKGGNGDFEPFPEAYDE
[2256] SEQ ID NO :712 (修饰的蛭素)
[2257] FPRMHKGGNGDFEPFPEAYDE
[2258] SEQ ID NO :713 (修饰的蛭素)
[2259] FPRMHKGGNGDFEPFPEAYDE
[2260] SEQ ID NO :714 (修饰的蛭素)
[2261] FPRMHKGGNGDFEEIPDAYDE
[2262] SEQ ID NO :715 (修饰的蛭素)
[2263] FPRMHKGGNGDFEEIPDAYDE
[2264] SEQ ID NO :716 (修饰的蛭素)
[2265] FPRMHKGGNGDFEEIPDAYDE
[2266] SEQ ID NO :717 (修饰的蛭素)
[2267] FPRMHKGGNGDFEAIIPDAYDE
[2268] SEQ ID NO :718 (修饰的蛭素)
[2269] FPRMHKGGNGDFEAIIPDAYDE
[2270] SEQ ID NO :719 (修饰的蛭素)
[2271] FPRMHKGGNGDFEAIIPDAYDE
[2272] SEQ ID NO :720 (修饰的蛭素)
[2273] FPRMHKGGNGDFEIPDAYDE
[2274] SEQ ID NO :721 (修饰的蛭素)
[2275] FPRMHKGGNGDFEIPDAYDE
[2276] SEQ ID NO :722 (修饰的蛭素)
[2277] FPRMHKGGNGDFEIPDAYDE
[2278] SEQ ID NO :723 (修饰的蛭素)
[2279] FPRMHKGGNGDFEEFPDAYDE
[2280] SEQ ID NO :724 (修饰的蛭素)
[2281] FPRMHKGGNGDFEEFPDAYDE
[2282] SEQ ID NO :725 (修饰的蛭素)
[2283] FPRMHKGGNGDFEEFPDAYDE
[2284] SEQ ID NO :726 (修饰的蛭素)
[2285] FPRMHKGGNGDFEAFPDAYDE

- [2286] SEQ ID NO :727 (修饰的蛭素)
[2287] FPRMHKGNNGDFEAFPDAYDE
[2288] SEQ ID NO :728 (修饰的蛭素)
[2289] FPRMHKGGNGDFEAFPDAYDE
[2290] SEQ ID NO :729 (修饰的蛭素)
[2291] FPRMHKGNNGDFEPFPDAYDE
[2292] SEQ ID NO :730 (修饰的蛭素)
[2293] FPRMHKGGNGDFEPFPDAYDE
[2294] SEQ ID NO :731 (修饰的蛭素)
[2295] FPRMHKGGNGDFEPFPDAYDE
[2296] SEQ ID NO :732 (修饰的山蛭素)
[2297] FPRMHKGNNGDFEEIEIDEE
[2298] SEQ ID NO :733 (修饰的山蛭素)
[2299] FPRMHKGGNGDFEEIEIDEE
[2300] SEQ ID NO :734 (修饰的山蛭素)
[2301] FPRMHKGGNGDFEEIEIDEE
[2302] SEQ ID NO :735 (修饰的山蛭素)
[2303] FPRMHKGNNGDFEEFEIDEE
[2304] SEQ ID NO :736 (修饰的山蛭素)
[2305] FPRMHKGGNGDFEEFEIDEE
[2306] SEQ ID NO :737 (修饰的山蛭素)
[2307] FPRMHKGGNGDFEEFEIDEE
[2308] SEQ ID NO :738 (修饰的牛蛭素)
[2309] FPRMHKGVNDFEEIPEEYL
[2310] SEQ ID NO :739 (修饰的牛蛭素)
[2311] FPRMHKGGVNDFEEIPEEYL
[2312] SEQ ID NO :740 (修饰的牛蛭素)
[2313] FPRMHKGGVNDFEEIPEEYL
[2314] SEQ ID NO :741 (修饰的牛蛭素)
[2315] FPRMHKGVNDFEEIEIDEE
[2316] SEQ ID NO :742 (修饰的牛蛭素)
[2317] FPRMHKGGVNDFEEIEIDEE
[2318] SEQ ID NO :743 (修饰的牛蛭素)
[2319] FPRMHKGGVNDFEEIEIDEE
[2320] SEQ ID NO :744 (修饰的牛蛭素)
[2321] FPRMHKGVNDFEEFEIDEE
[2322] SEQ ID NO :745 (修饰的牛蛭素)
[2323] FPRMHKGGVNDFEEFEIDEE
[2324] SEQ ID NO :746 (修饰的牛蛭素)

- [2325] FPRMHKGGGVNDFEEFEIDEE
[2326] SEQ ID NO :747 (修饰的肝素辅因子 II)
[2327] FPRMHKGGNGDFDYLDLEYL
[2328] SEQ ID NO :748 (修饰的肝素辅因子 II)
[2329] FPRMHKGGNGDFDYLDLEYL
[2330] SEQ ID NO :749 (修饰的肝素辅因子 II)
[2331] FPRMHKGGNGDFDYLDLEYL
[2332] SEQ ID NO :750 (修饰的肝素辅因子 II)
[2333] FPRMHKGGNGDFDYVDLEYL
[2334] SEQ ID NO :751 (修饰的肝素辅因子 II)
[2335] FPRMHKGGNGDFDYVDLEYL
[2336] SEQ ID NO :752 (修饰的肝素辅因子 II)
[2337] FPRMHKGGNGDFDYVDLEYL
[2338] SEQ ID NO :753 (修饰的肝素辅因子 II)
[2339] FPRMHKGGNGDFDYLDFEYL
[2340] SEQ ID NO :754 (修饰的肝素辅因子 II)
[2341] FPRMHKGGNGDFDYLDFEYL
[2342] SEQ ID NO :755 (修饰的肝素辅因子 II)
[2343] FPRMHKGGNGDFDYLDFEYL
[2344] SEQ ID NO :756 (修饰的肝素辅因子 II)
[2345] FPRMHKGGNGDFDYVDFEYL
[2346] SEQ ID NO :757 (修饰的肝素辅因子 II)
[2347] FPRMHKGGNGDFDYVDFEYL
[2348] SEQ ID NO :758 (修饰的肝素辅因子 II)
[2349] FPRMHKGGNGDFDYVDFEYL
[2350] SEQ ID NO :759 (修饰的肝素辅因子 II)
[2351] FPRMHKGGNGDFDYLDLDYL
[2352] SEQ ID NO :760 (修饰的肝素辅因子 II)
[2353] FPRMHKGGNGDFDYLDLDYL
[2354] SEQ ID NO :761 (修饰的肝素辅因子 II)
[2355] FPRMHKGGNGDFDYLDLDYL
[2356] SEQ ID NO :762 (修饰的肝素辅因子 II)
[2357] FPRMHKGGNGDFDYVDLDYL
[2358] SEQ ID NO :763 (修饰的肝素辅因子 II)
[2359] FPRMHKGGNGDFDYVDLDYL
[2360] SEQ ID NO :764 (修饰的肝素辅因子 II)
[2361] FPRMHKGGNGDFDYVDLDYL
[2362] SEQ ID NO :765 (修饰的肝素辅因子 II)
[2363] FPRMHKGGNGDFDYLDLDYL

- [2364] SEQ ID NO :766 (修饰的肝素辅因子 II)
[2365] FPRMHKGGNGDFDYLDYFDYL
[2366] SEQ ID NO :767 (修饰的肝素辅因子 II)
[2367] FPRMHKGGNGDFDYLDYFDYL
[2368] SEQ ID NO :768 (修饰的肝素辅因子 II)
[2369] FPRMHKGGNGDFDYVDFDYLDYL
[2370] SEQ ID NO :769 (修饰的肝素辅因子 II)
[2371] FPRMHKGGNGDFDYVDFDYLDYL
[2372] SEQ ID NO :770 (修饰的肝素辅因子 II)
[2373] FPRMHKGGNGDFDYVDFDYLDYL
[2374] SEQ ID NO :771 (共有序列)
[2375] (N- 末端肽)-X₁-H-X₂-(G)_n-(外部位点 I 结合肽)
[2376] SEQ ID NO :772 (合成肽)
[2377] FEEIPEEYL
[2378] SEQ ID NO :773 (合成肽)
[2379] YEPIPEEA
[2380] SEQ ID NO :774 (合成肽)
[2381] NGDFEEIPEEYL
[2382] SEQ ID NO :775 (合成肽)
[2383] APPFDFAIPEEYL
[2384] SEQ ID NO :776 (BPTI- 牛胰腺胰蛋白酶抑制剂)
[2385] MKMSRLCLSVALLVLLGTLAASTPGCDTSNQAQRPDFCLEPPYTGPCKARI I
[2386] RYFYNAKAGLCQTFVYGGCRAKRNDFKSAEDCMRTCGGAIGPWENL

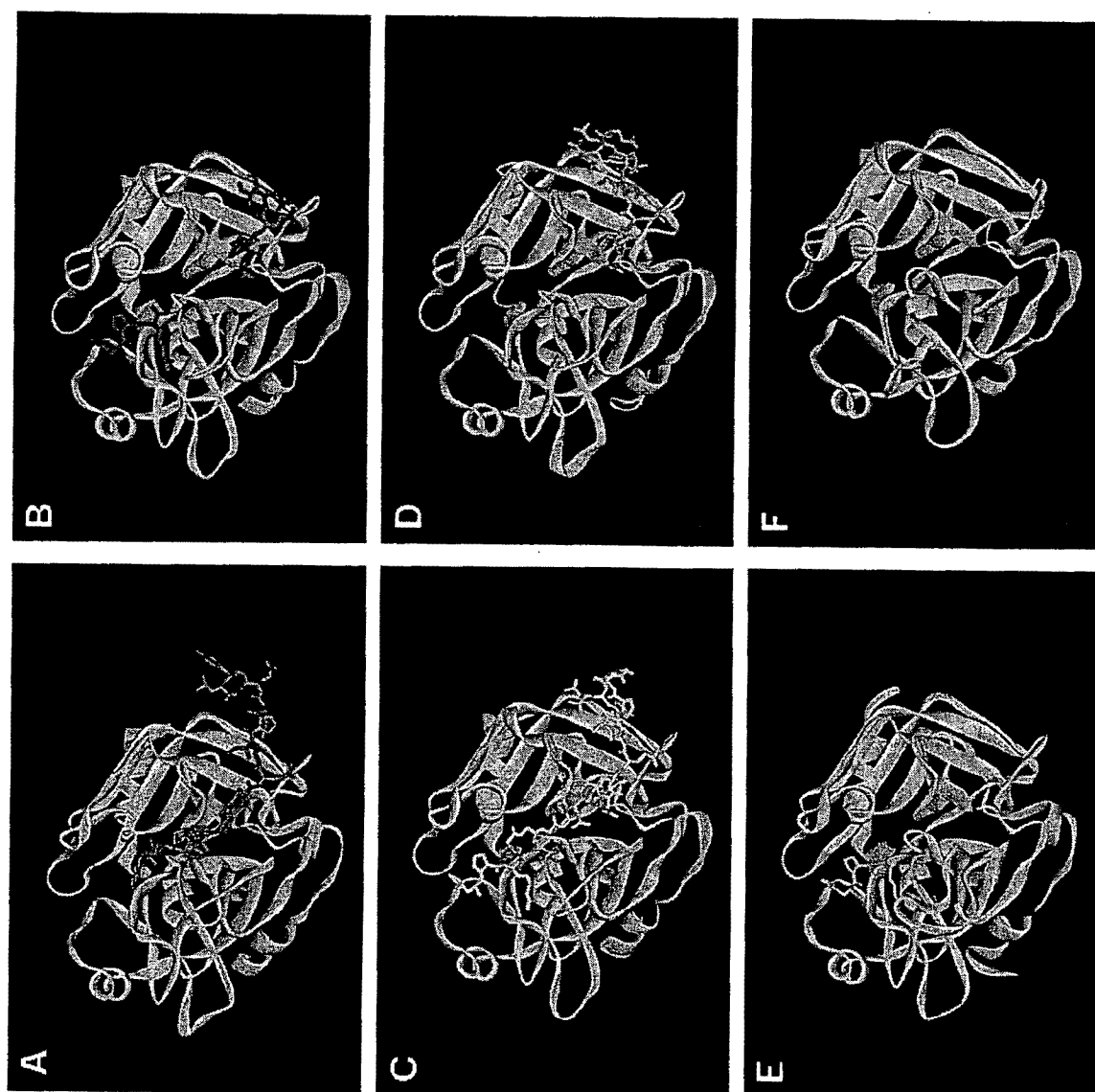


图 2

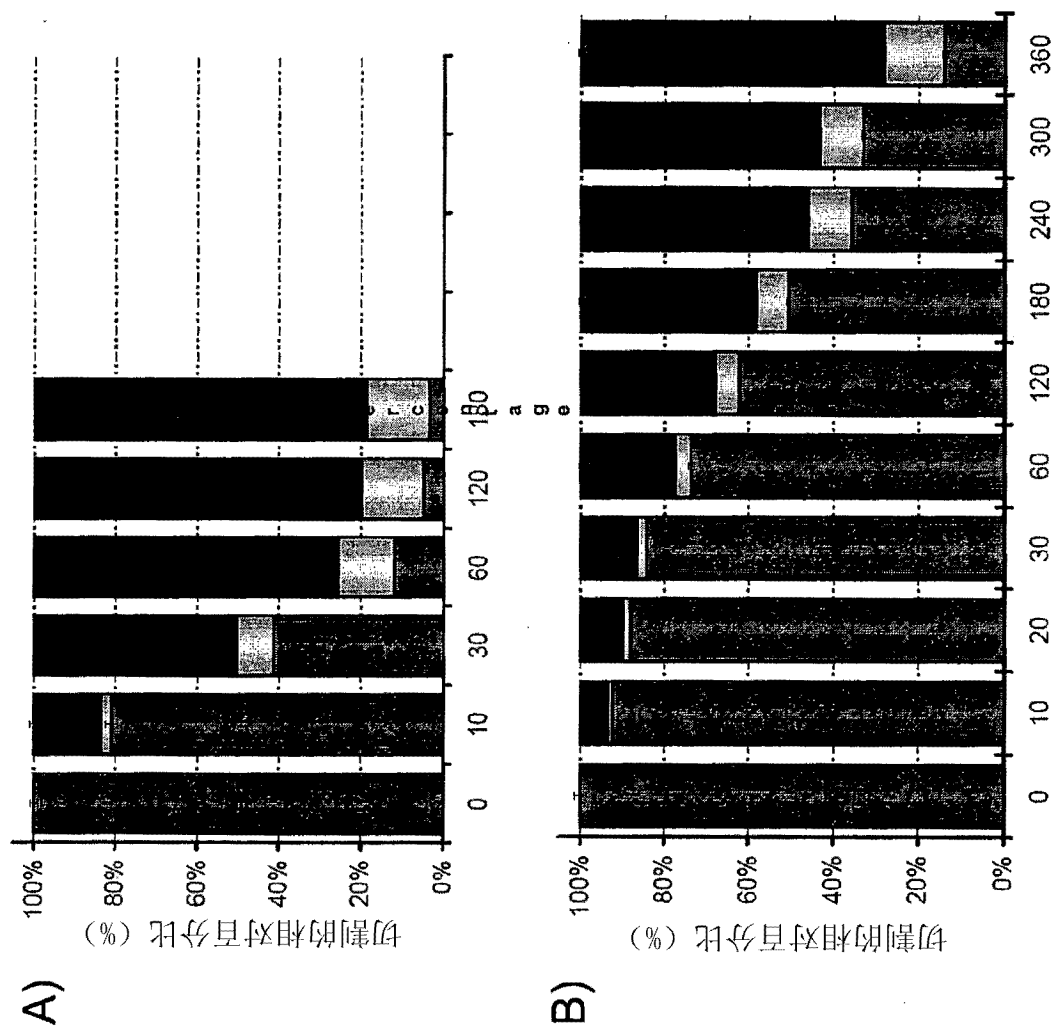


图 3

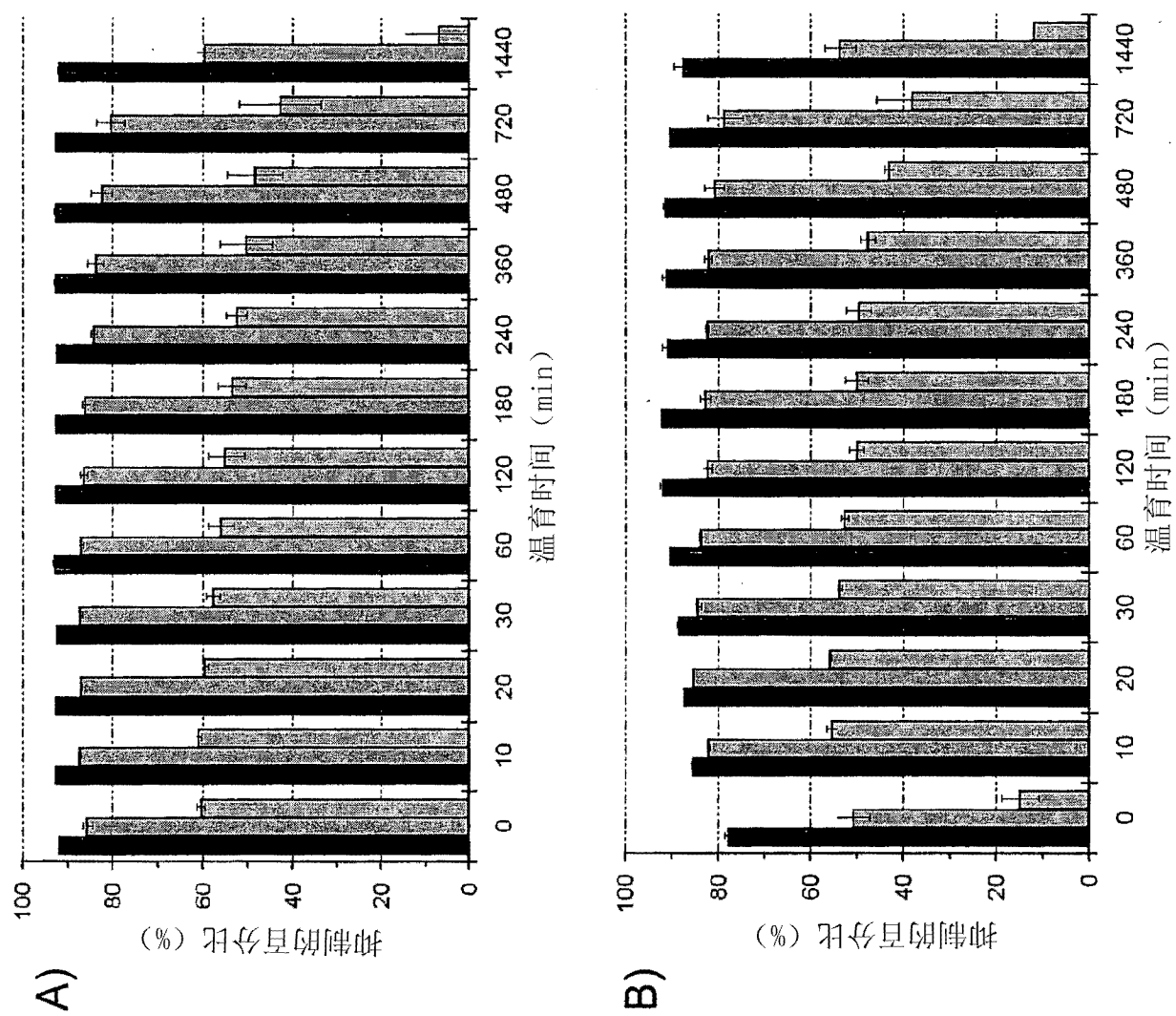


图 4

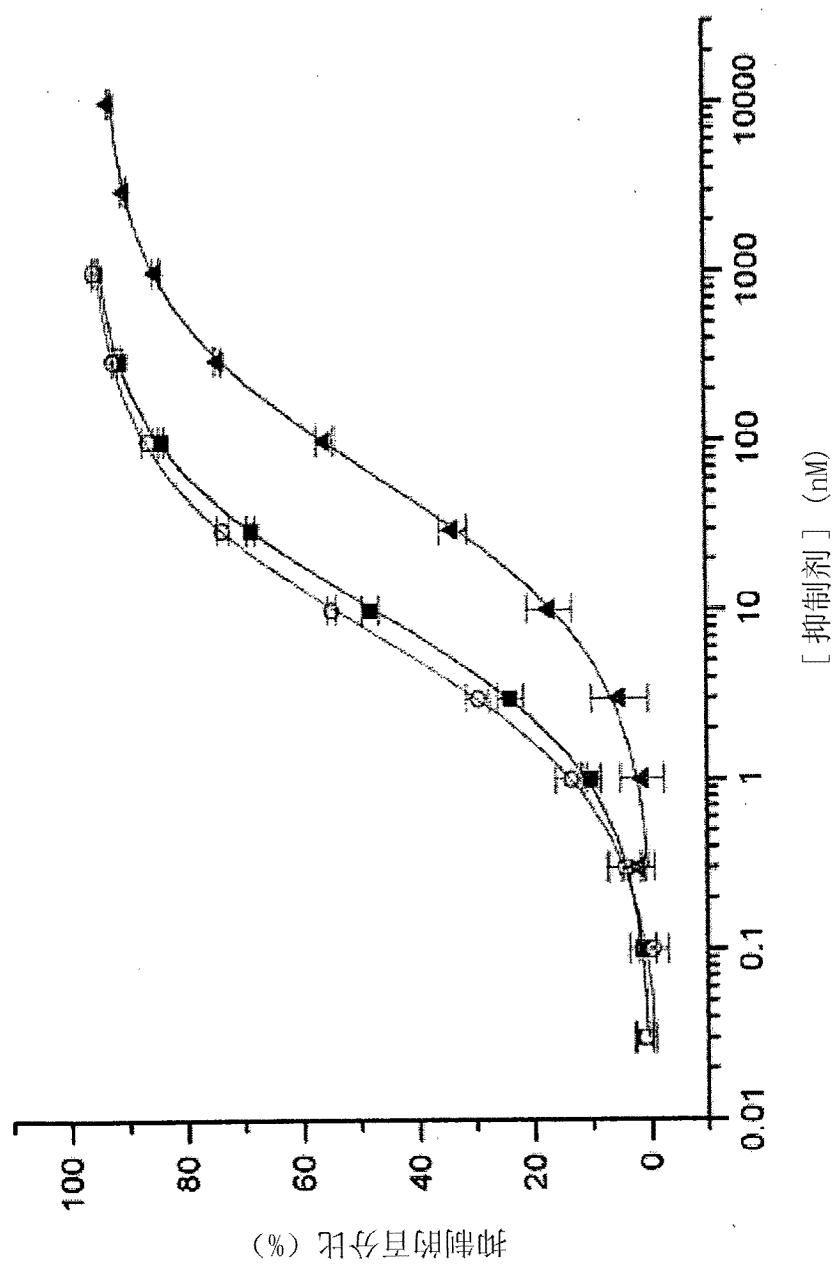


图 5

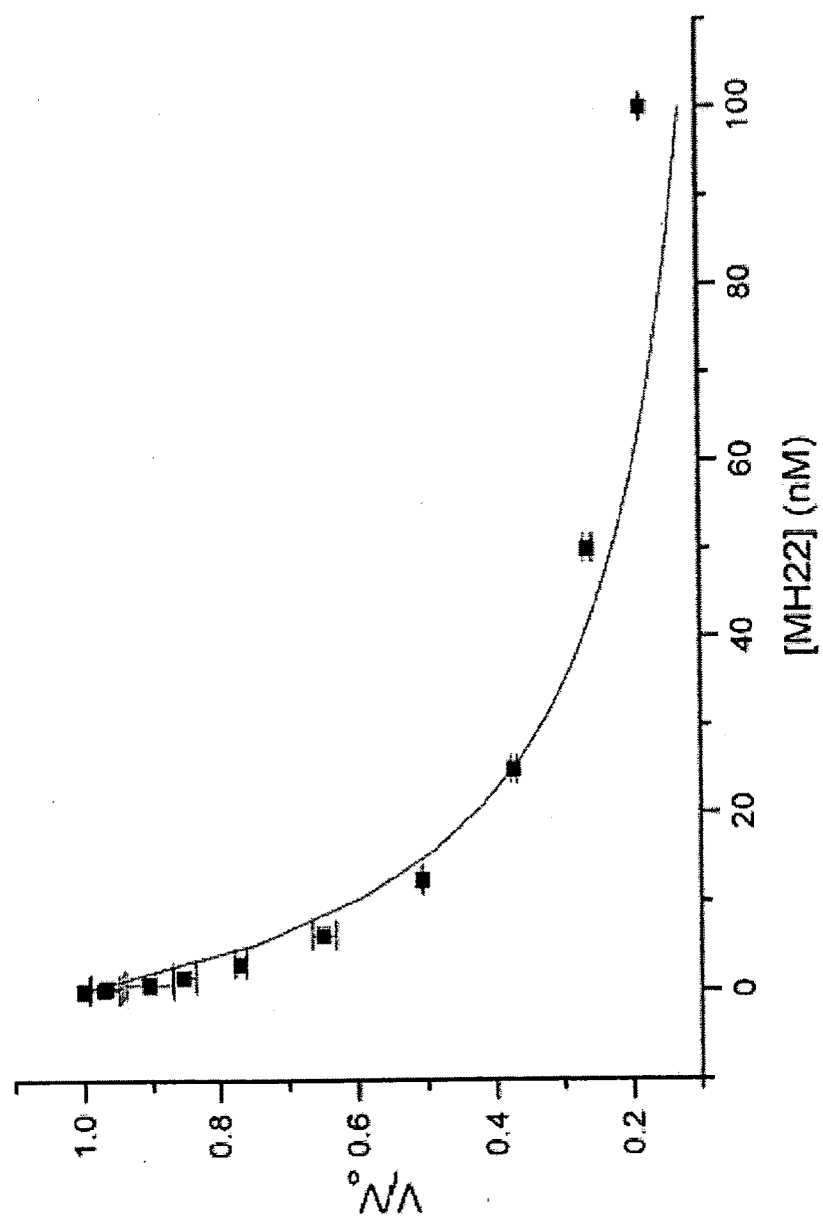


图 6

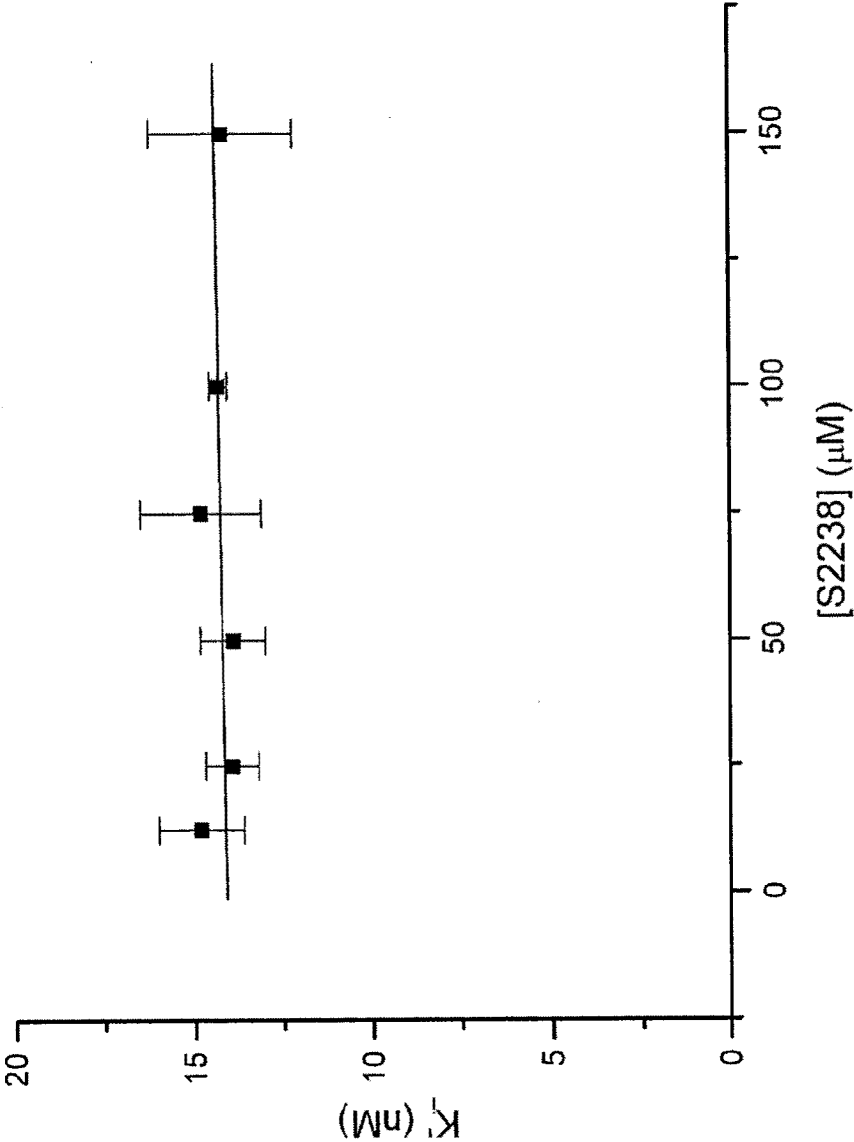


图 7

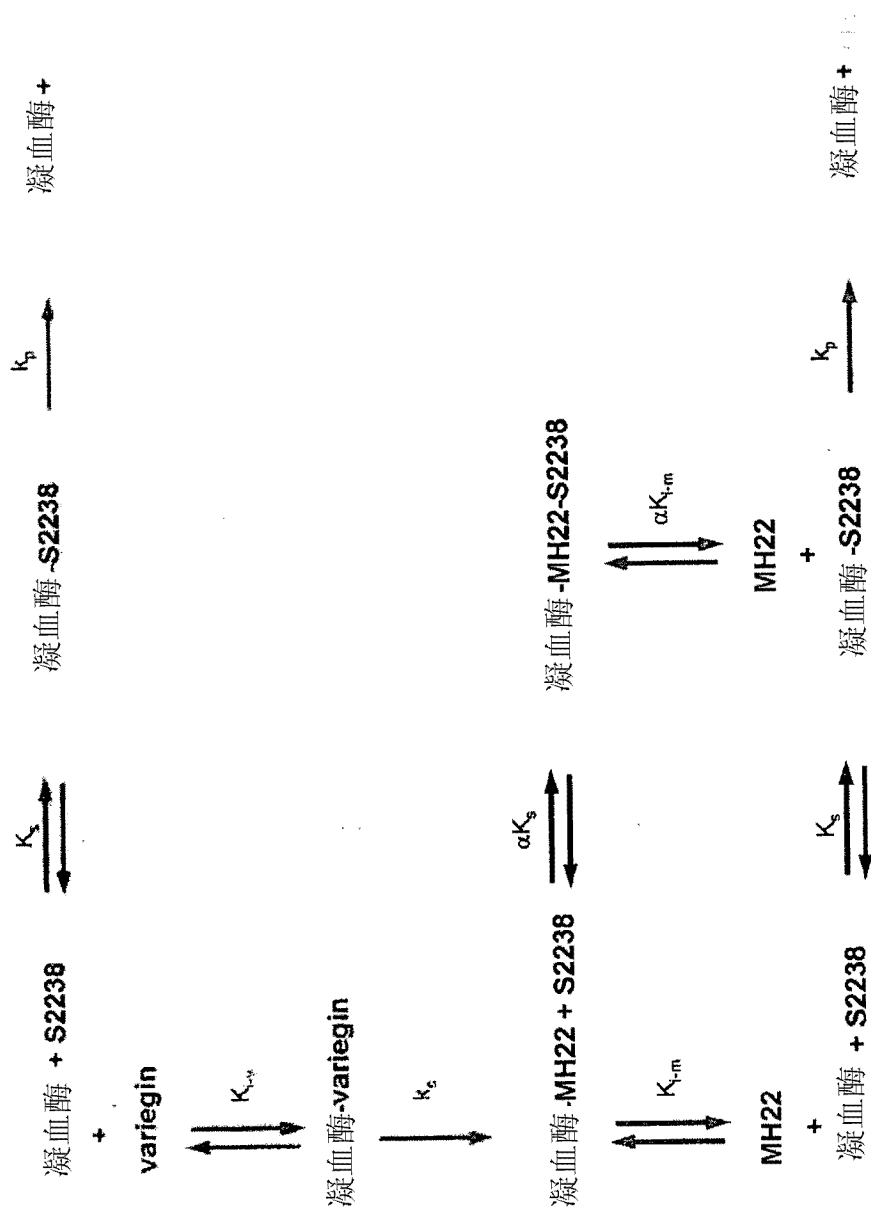


图 8

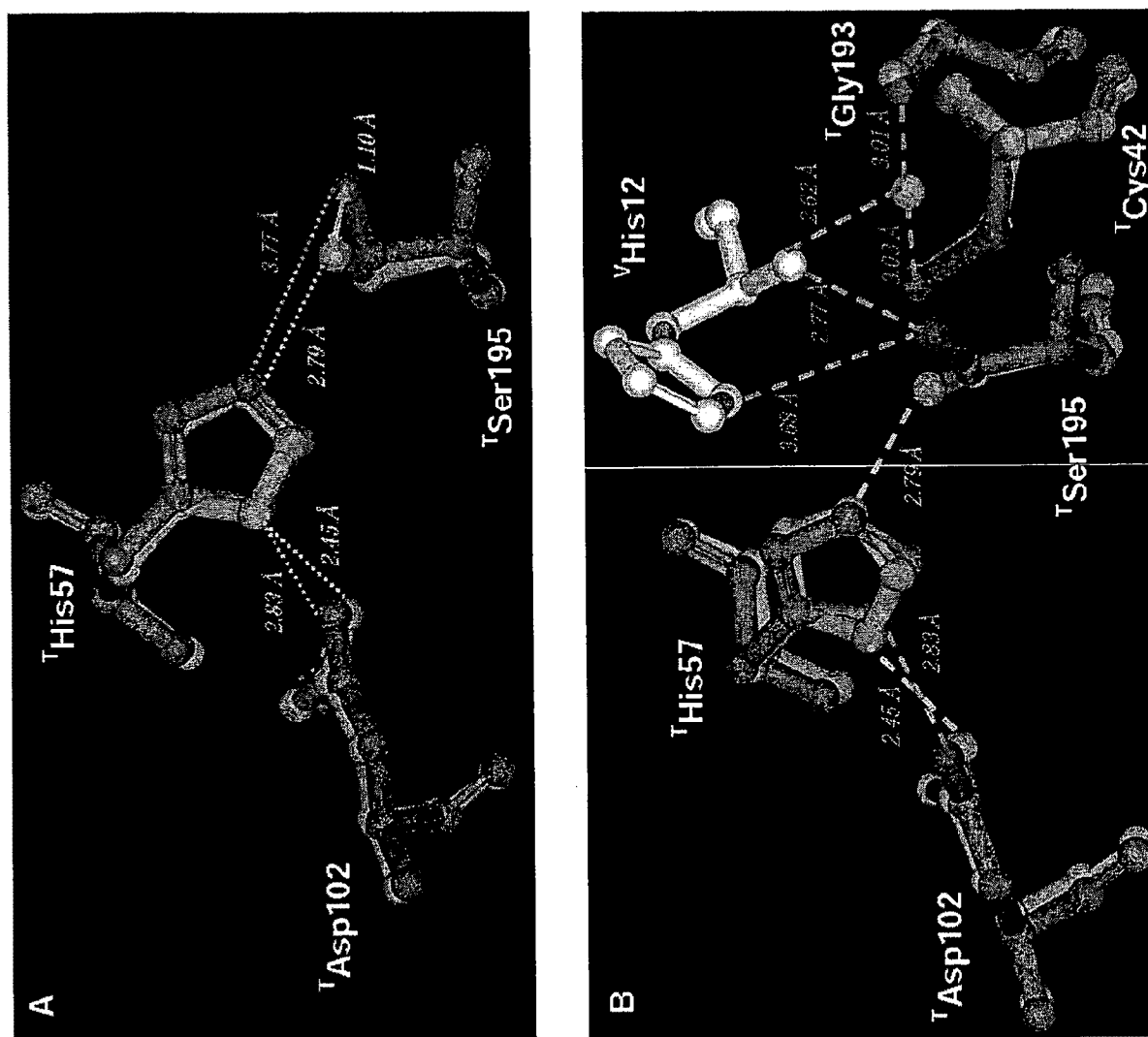


图 9



图 10

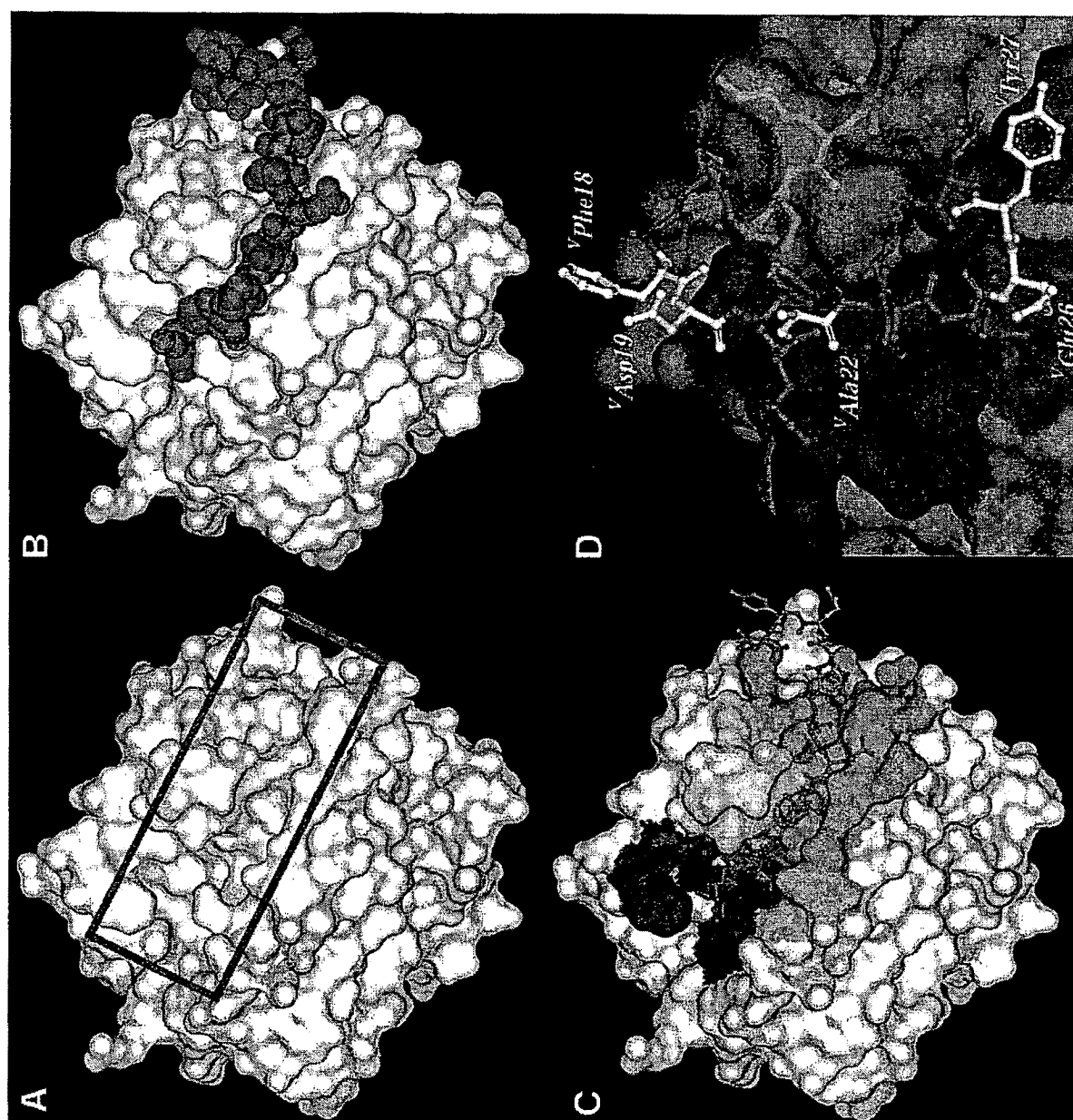


图 11

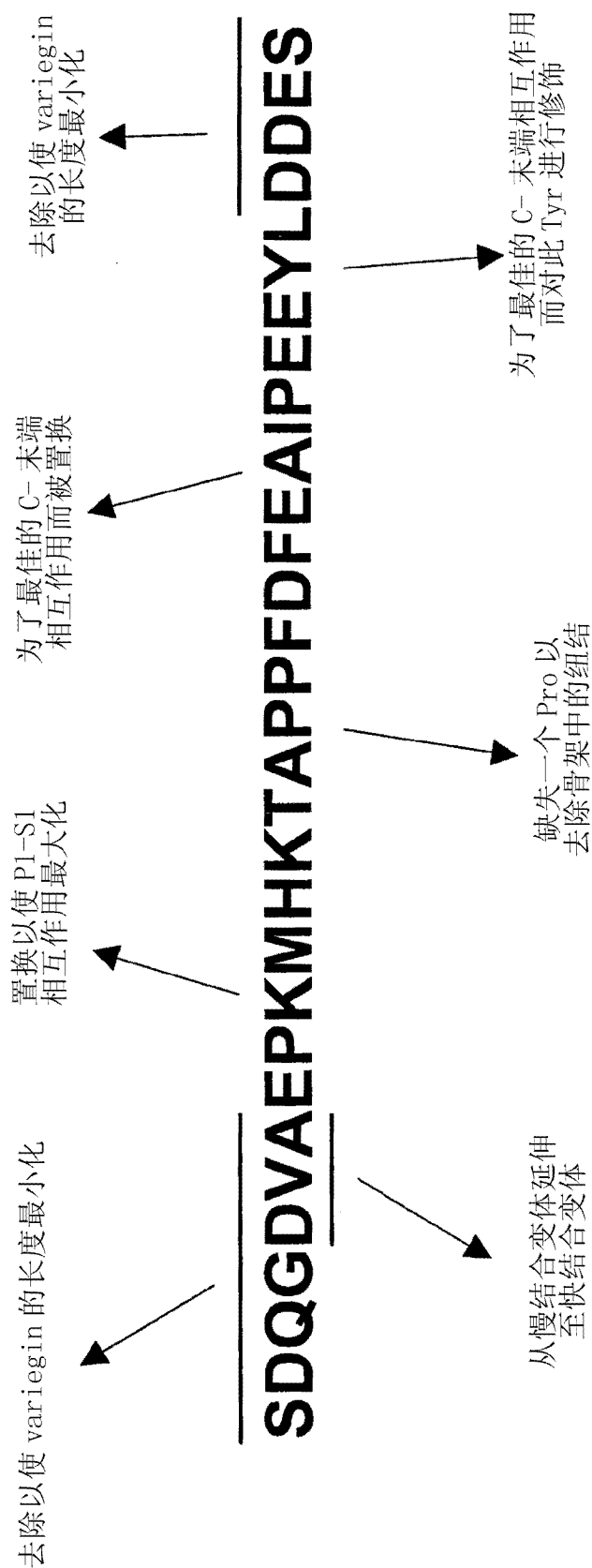


图 12

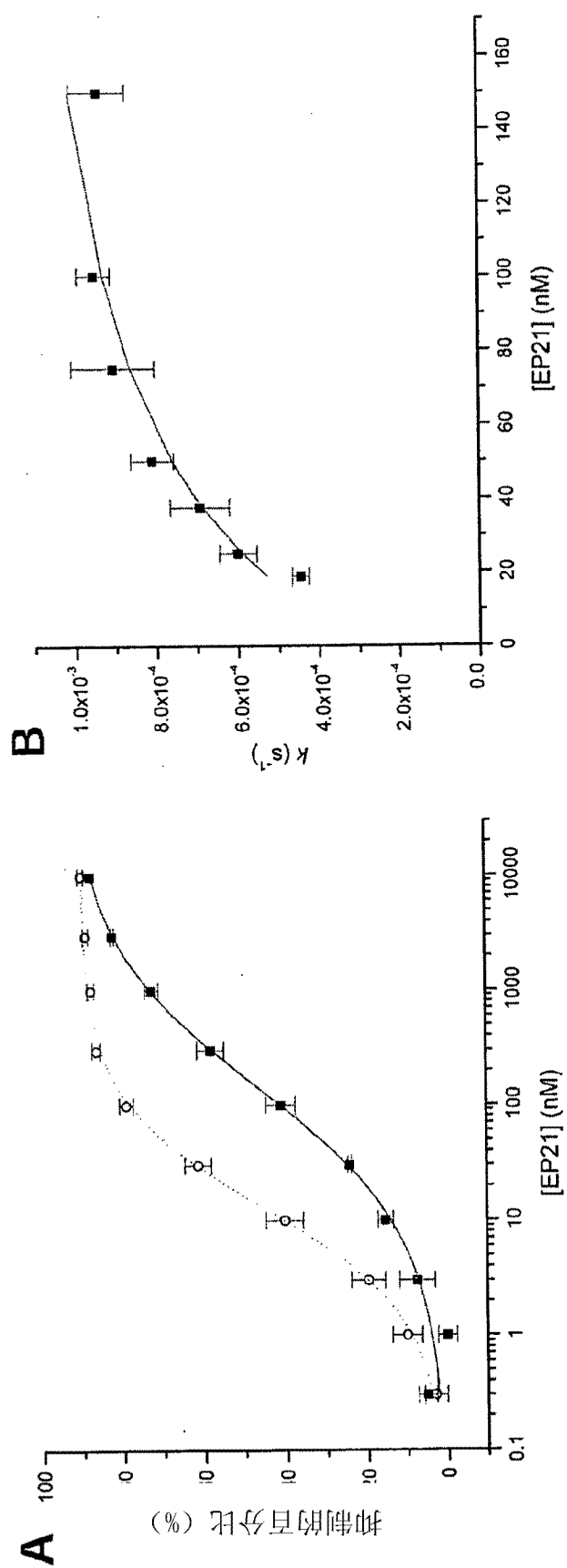


图 13

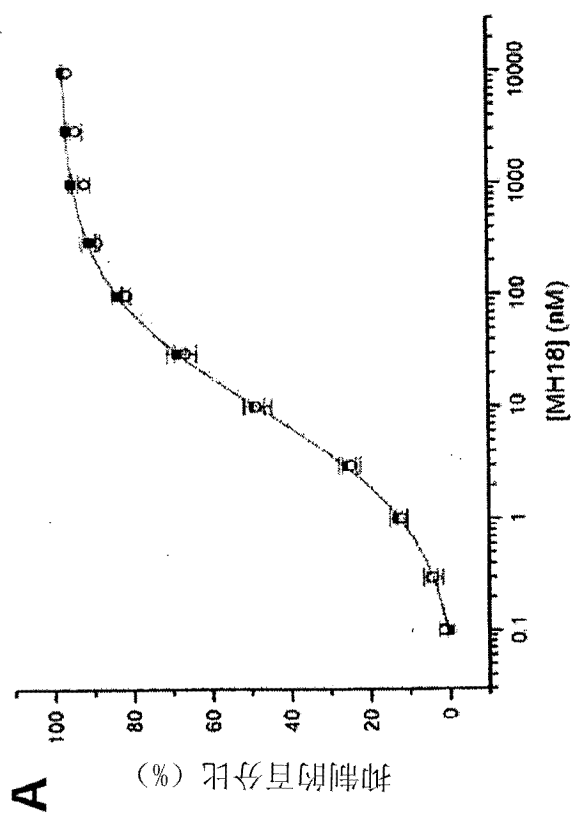
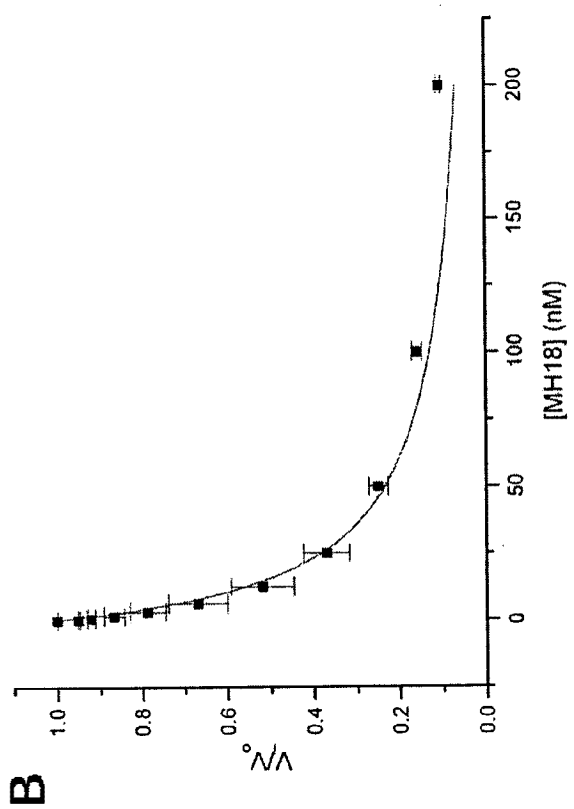


图 14

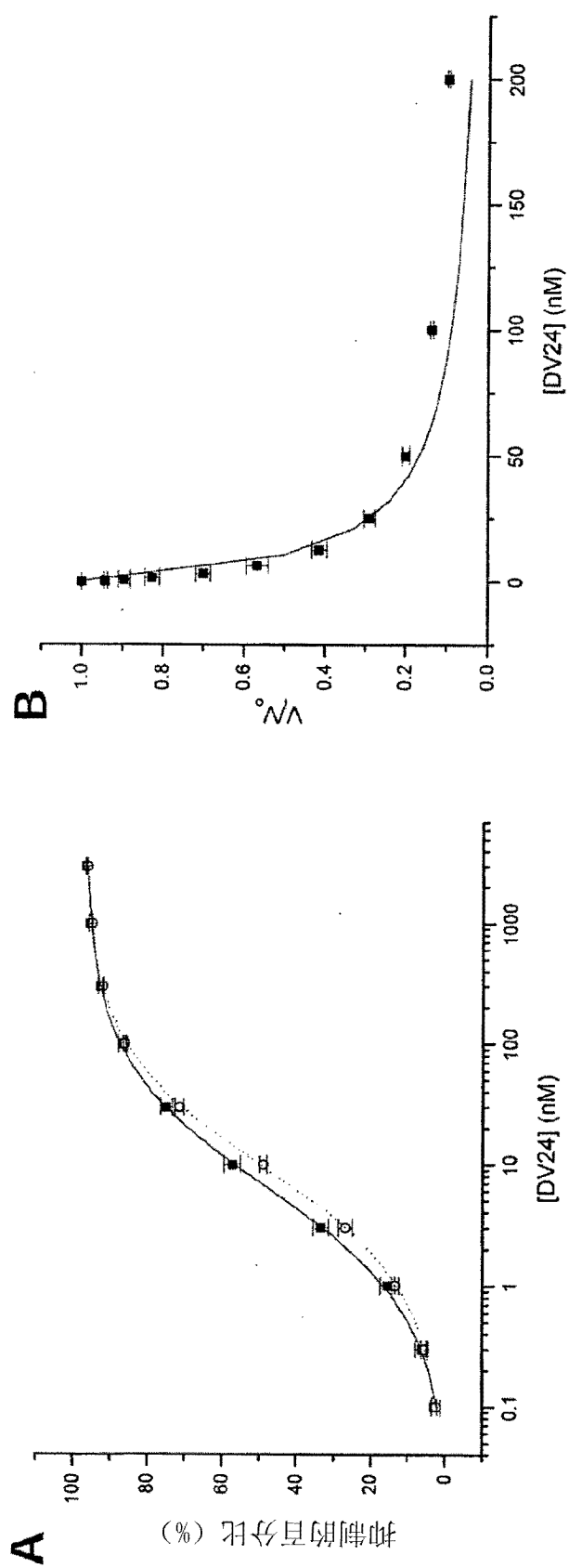


图 15

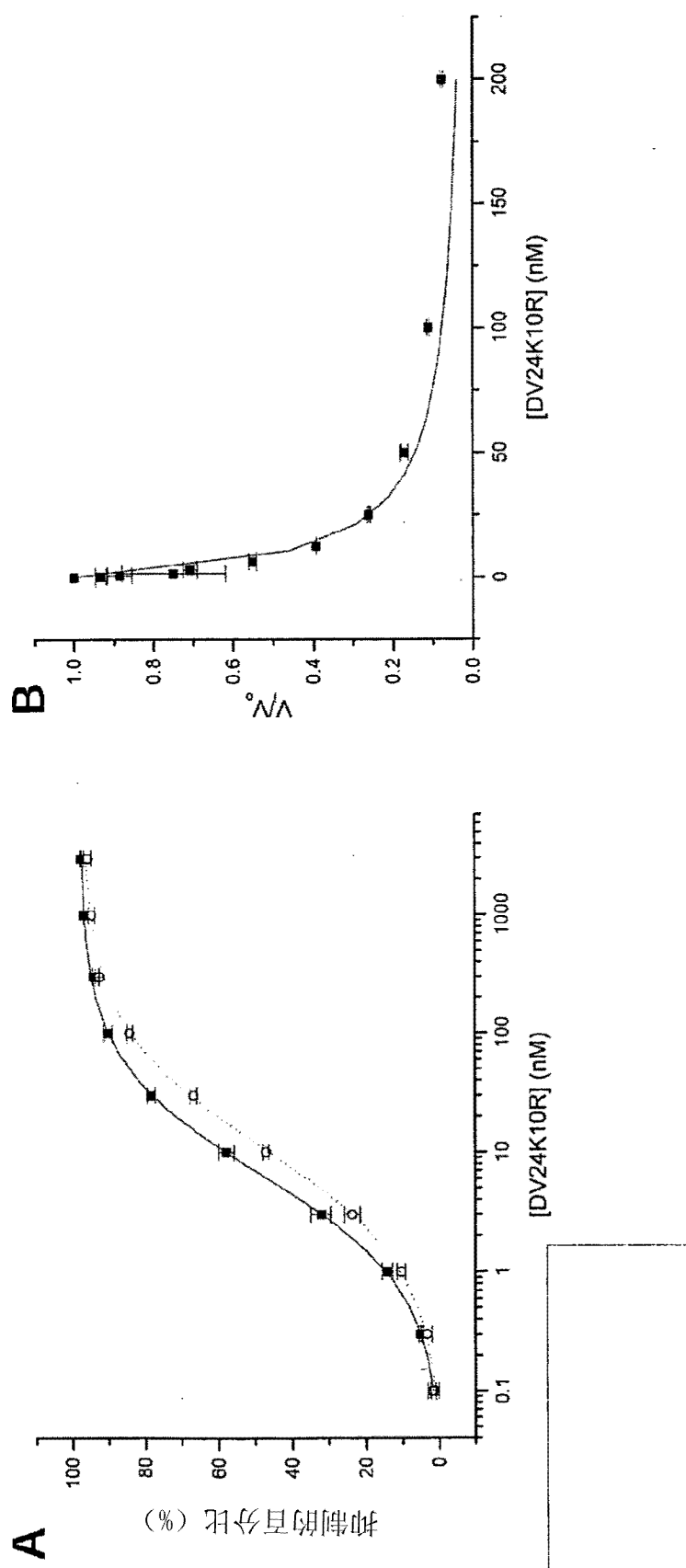


图 16

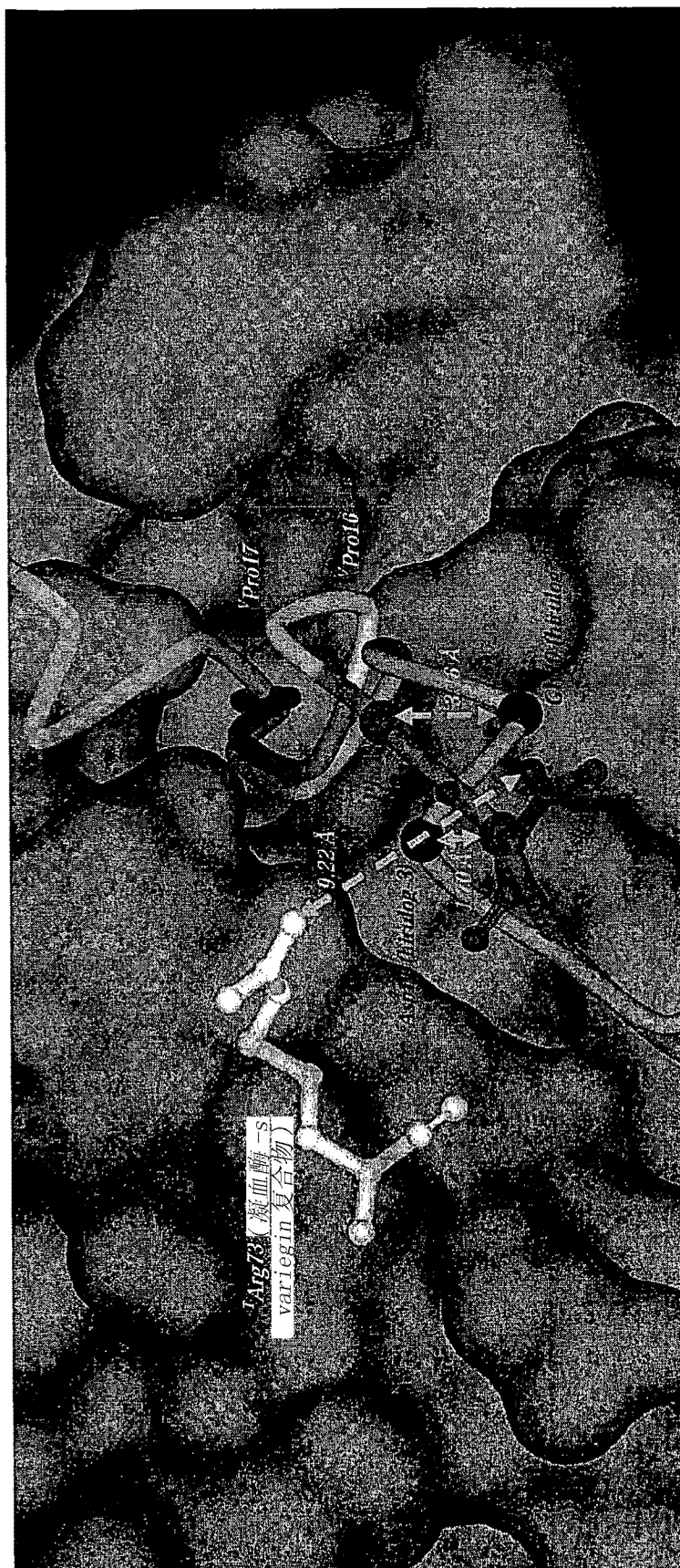


图 17

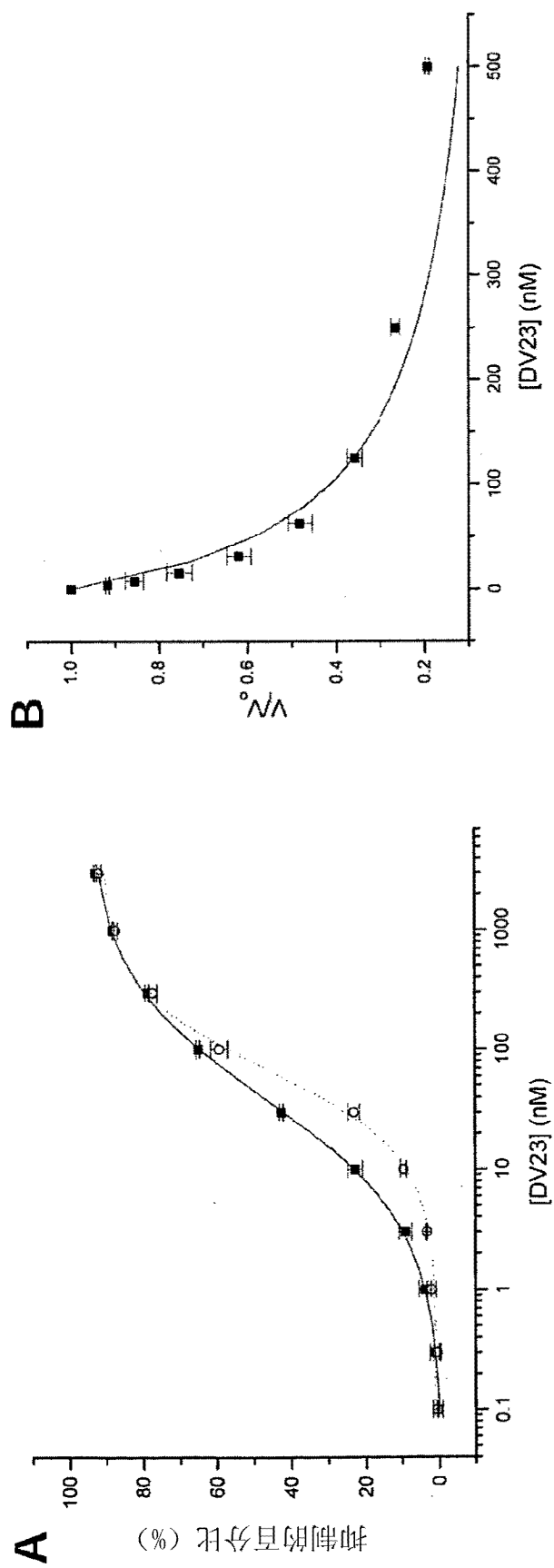


图 18

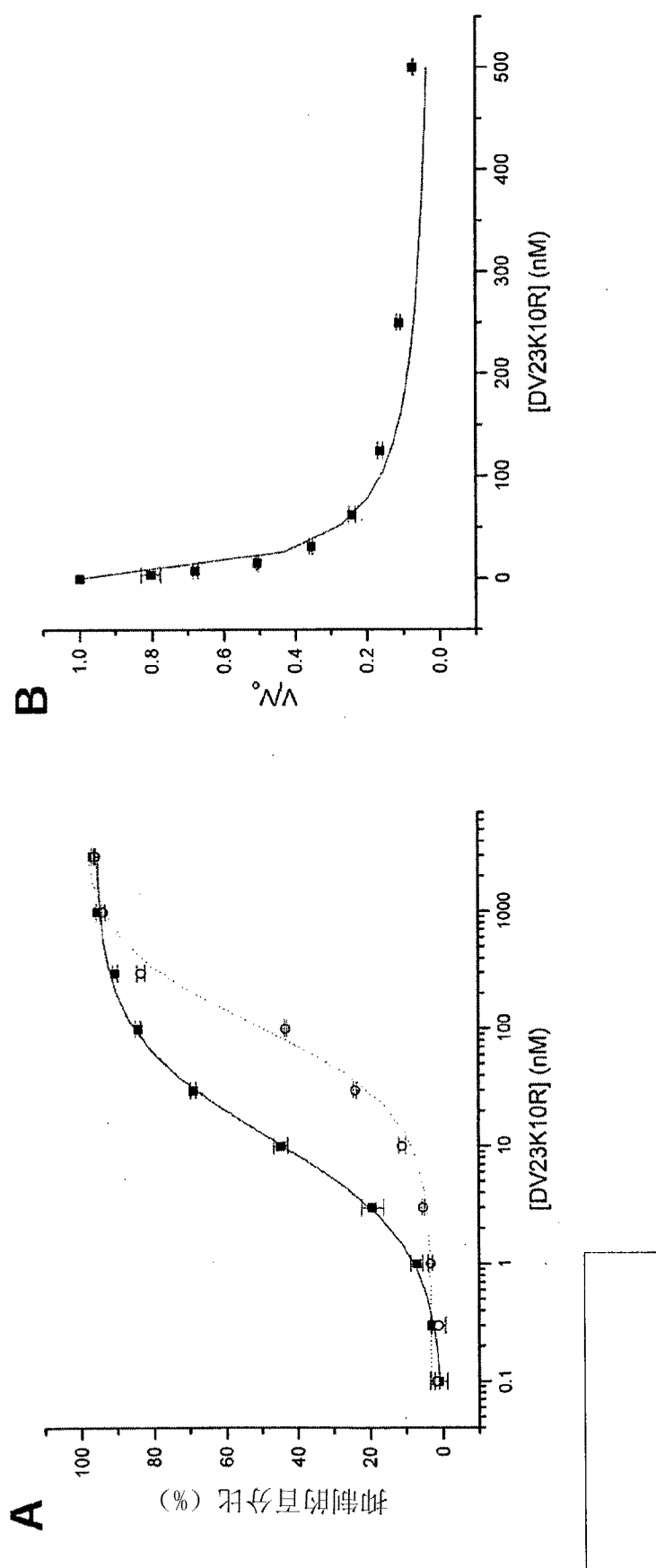


图 19

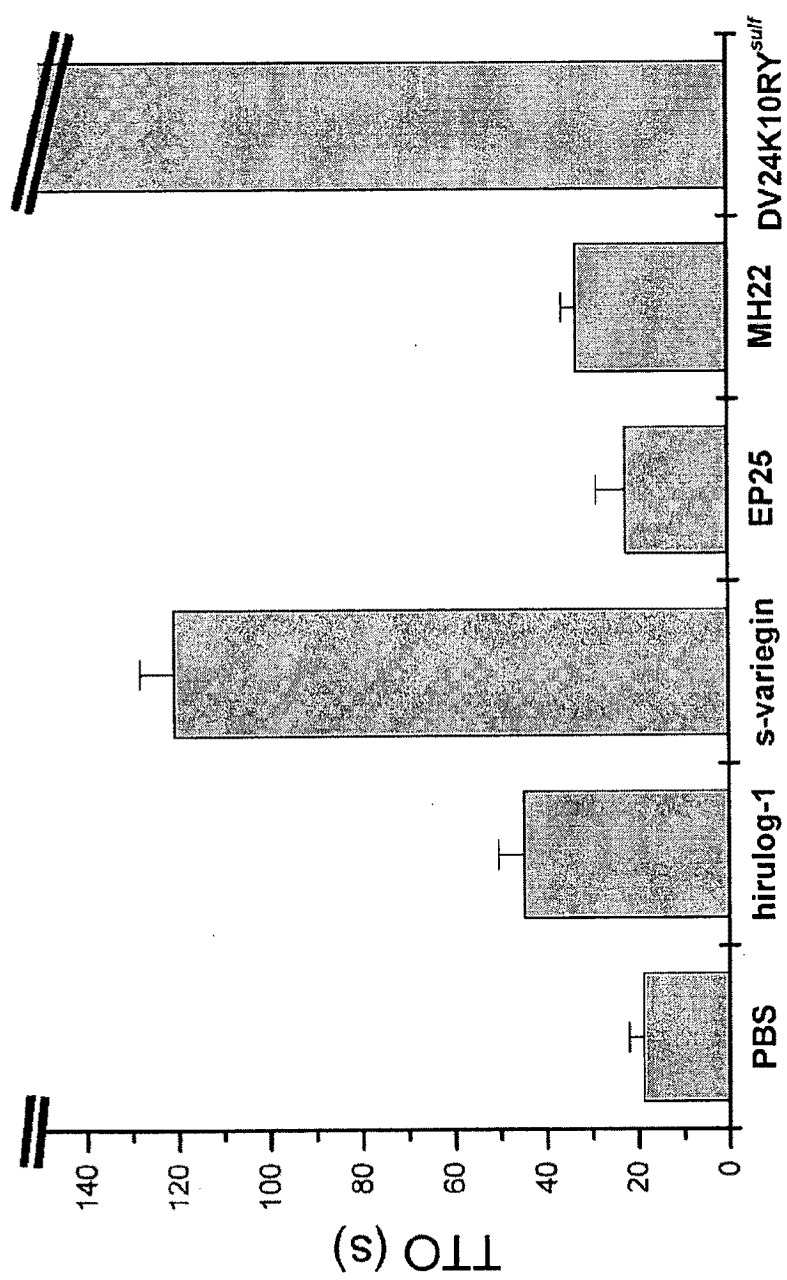


图 20

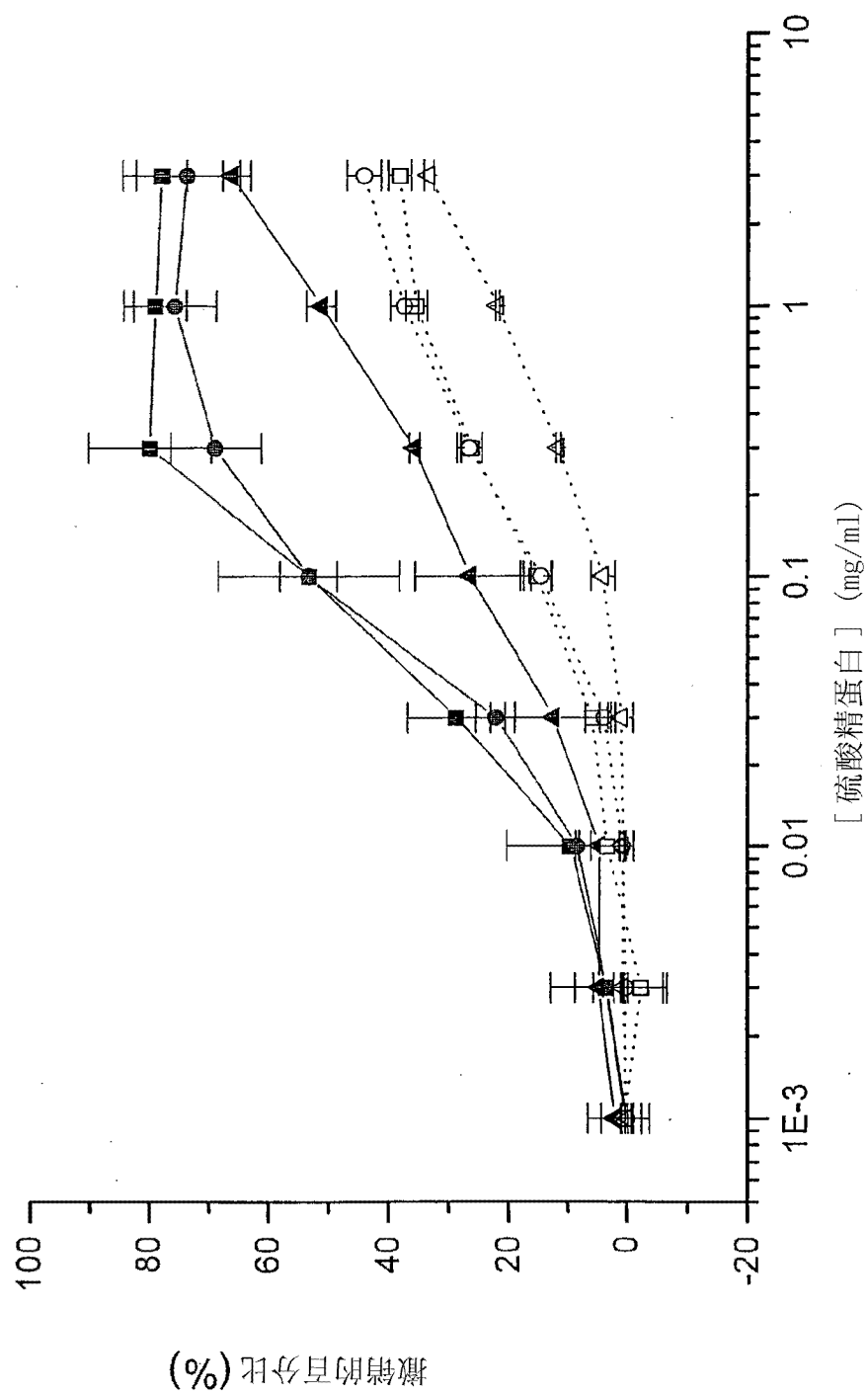


图 21