



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107148277 B

(45) 授权公告日 2022. 03. 22

(21) 申请号 201580059881.7	(74) 专利代理机构 北京华睿卓成知识产权代理 事务所(普通合伙) 11436
(22) 申请日 2015.11.03	代理人 程淼
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 107148277 A	(51) Int.Cl. A61K 38/17(2006.01) A61P 1/16(2006.01) A61P 3/04(2006.01) A61P 5/50(2006.01)
(43) 申请公布日 2017.09.08	(56) 对比文件 W0 2013034116 A1,2013.03.14 W0 2013034116 A1,2013.03.14 Sam Virtue等.Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome—an allostatic perspective.《Biochim Biophys Acta》.2010, 第1801卷(第3期), Stephanie Coulon等.Angiogenesis in chronic liver disease and its complications.《Liver Int》.2010,第31卷(第2 期),
(66) 本国优先权数据 201410610777.X 2014.11.03 CN 201510021469.8 2015.01.15 CN	审查员 董旭婷
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2017.05.03	权利要求书1页 说明书17页 序列表15页 附图21页
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/CN2015/093726 2015.11.03	
(87) PCT国际申请的公布数据 W02016/070798 ZH 2016.05.12	
(73) 专利权人 清华大学 地址 100084 北京市海淀区清华园1号 专利权人 北京普罗吉生物科技发展有限公司	
(72) 发明人 罗永章 王慧 李辉 鲁薪安 付彦 占顺利 周代福	

(54) 发明名称
一种抑制脂肪细胞分化和胰岛素耐受的药
物

(57) 摘要
本发明提供了血管内皮抑制素或其功能性
变体在制备用于治疗饮食性肥胖、非酒精性脂肪
肝、胰岛素抵抗或葡萄糖耐受不良的药物中的用
途。在本发明的实施方案中,所述功能性变体可
以是YH-16、mES、mYH-16、m003、m007、mZ101等。

1. 血管内皮抑制素功能性变体在制备用于治疗饮食性肥胖的药物中的用途,其中所述功能性变体选自由S03、36、249、聚乙二醇修饰的S03、聚乙二醇修饰的36、聚乙二醇修饰的249构成的组,

其中S03和聚乙二醇修饰的S03的氨基酸序列如SEQ ID NO:7所示,36和聚乙二醇修饰的36的氨基酸序列如SEQ ID NO:8所示,249和聚乙二醇修饰的249的氨基酸序列如SEQ ID NO:9所示。

2. 血管内皮抑制素功能性变体在制备用于治疗非酒精性脂肪肝的药物中的用途,其中所述功能性变体选自由S03、36、249、聚乙二醇修饰的S03、聚乙二醇修饰的36、聚乙二醇修饰的249构成的组,

其中S03和聚乙二醇修饰的S03的氨基酸序列如SEQ ID NO:7所示,36和聚乙二醇修饰的36的氨基酸序列如SEQ ID NO:8所示,249和聚乙二醇修饰的249的氨基酸序列如SEQ ID NO:9所示。

3. 血管内皮抑制素功能性变体,其中所述功能性变体选自由S03、36、249、聚乙二醇修饰的S03、聚乙二醇修饰的36、聚乙二醇修饰的249构成的组,

其中S03和聚乙二醇修饰的S03的氨基酸序列如SEQ ID NO:7所示,36和聚乙二醇修饰的36的氨基酸序列如SEQ ID NO:8所示,249和聚乙二醇修饰的249的氨基酸序列如SEQ ID NO:9所示。

一种抑制脂肪细胞分化和胰岛素耐受的药物

技术领域

[0001] 本发明涉及血管内皮抑制素的新功能。具体而言,本发明发现血管内皮抑制素可以显著抑制脂肪细胞分化并缓解胰岛素耐受。本发明还提供了血管内皮抑制素在治疗饮食性肥胖、非酒精性脂肪肝、胰岛素抵抗、葡萄糖耐受不良等疾病中的用途。

背景技术

[0002] 脂肪的积累会引起脂肪组织的扩张,这意味着脂肪细胞的数量增多和体积增大,这个过程伴随着血管新生(Cristancho AG et al.Nat Rev Mol Cell Biol 2011;12:722-734;Daquinag AC et al.Trends Pharmacol Sci 2011;32:300-307)。

[0003] 1997年,Folkman实验室发现了内源性血管抑制剂Endostatin(血管内皮抑制素,简称ES),可直接靶向血管内皮细胞,具有抑制新生血管生成和治疗肿瘤的活性(O'Reilly MS et al.Cell 1997;88:277-285;Boehm T.et al.Nature 1997;390:404-407)。

[0004] YH-16是在ES的N-末端添加了9个额外氨基酸(MGGSHHHHH)而得到的ES变体,已经于2005年获得国家一类新药证书,用于治疗非小细胞肺癌(Fu Y et al.IUBMB Life 2009;61:613-626;Wang J et al.Zhongguo fei ai za zhi 2005;8:283-290;Han B et al.J Thorac Oncol 2011;6(6):1104-1109)。聚乙二醇(PEG)修饰的ES和YH-16分别命名为mES和mYH-16,它们分别是一个分子量为20kDa的单甲氧基聚乙二醇丙醛(mPEG-ALD)修饰一个ES或YH-16分子得到的产物,偶联的位点是活化的mPEG-ALD醛基与ES或YH-16的N-末端 α -氨基。

[0005] 已有报道表明,血管生成抑制因子可以通过抑制脂肪组织中的血管新生来抑制肥胖(Rupnick MA et al.Proc Natl Acad Sci U S A 2002;99:10730-10735;Kim MY et al.Int J Obes (Lond).2010;34:820-830)。2002年,Folkman实验室报道了几个不同的血管抑制剂可以抑制小鼠遗传性肥胖,其中包括ES(Rupnick MA et al.Proc Natl Acad Sci U S A 2002;99:10730-10735)。

[0006] 脂肪细胞数量的增多直接依赖于脂肪细胞的分化(Cristancho AG et al.Nat Rev Mol Cell Biol 2011;12:722-734),这是一个非常复杂的调控过程。研究表明,过氧化物酶体增殖剂激活受体 γ (Peroxisome proliferator-activated receptor gamma,PPAR γ)是脂肪细胞分化的中心控制因子(Tang QQ et al.Annu Rev Biochem2012;81:715-736),它能够通过调控下游脂肪细胞表型控制基因(包括CD36,ap2,Glut4,LPL and LXR等)的表达来调控脂肪细胞的分化(Cristancho AG et al.Nat Rev Mol Cell Biol 2011;12:722-734;Lee J.et al.J Cell Biochem 2012;113:2488-2499)。

[0007] 大量流行病学研究表明,肥胖能够引起代谢紊乱,是代谢综合征的一个重要临床表现,也是引起非酒精性脂肪肝、胰岛素抵抗、葡萄糖耐受不良、和II型糖尿病的重要危险因素(Malik VS et al.Nat Rev Endocrinol 2013;9:13-27)。

发明内容

[0008] 本发明涉及已知血管抑制剂蛋白血管内皮抑制素 (Endostatin, ES) 的新活性, 即抑制脂肪细胞分化的活性, 并提供了以该活性为基础的ES在治疗饮食性肥胖、脂肪肝、胰岛素抵抗和葡萄糖耐受不良等代谢紊乱疾病中的新用途。

[0009] 发明人发现, ES可直接作用于脂肪前体细胞, 并且可以通过抑制脂肪细胞分化中心调控因子PPAR γ 1和/或PPAR γ 2的表达抑制脂肪细胞分化。

[0010] 发明人发现, ES可以抑制由于高脂饮食引起的小鼠体重增加, 这种抑制作用是通过抑制小鼠体内脂肪的积累而实现的。

[0011] 发明人发现, ES可以抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加和脂肪沉积, 从而预防和治疗脂肪肝。

[0012] 发明人还发现, ES可以通过增强Akt的磷酸化提高小鼠对胰岛素的响应, 改善小鼠的胰岛素抵抗和葡萄糖耐受不良。

[0013] 发明人还发现, ES的突变体例如YH-16、003、007和Z101等在上述实验中具有与ES相当的活性, 而经过聚乙二醇 (PEG) 修饰的ES及其变体YH-16、003、007和Z101 (mES、mYH-16、m003、m007和mZ101) 等与未修饰的蛋白具有相类似的活性。

附图说明

[0014] 图1A, ES及其变体YH-16可显著抑制高脂饮食引起的小鼠体重增长。***代表 $P < 0.001$ 。

[0015] 图1B, ES及其变体YH-16可显著抑制高脂饮食引起的小鼠脂肪组织重量增加。*代表 $P < 0.05$, ***代表 $P < 0.001$ 。

[0016] 图1C, ES及其变体YH-16对高脂饮食小鼠的肺脏、心脏和肾脏的重量没有影响。

[0017] 图2A, ES及其变体YH-16可显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加。*代表 $P < 0.05$, **代表 $P < 0.01$ 。

[0018] 图2B, ES及其变体YH-16处理组小鼠肝脏组织切片。

[0019] 图2C, ES及其变体YH-16可显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏脂肪沉积。***代表 $P < 0.001$ 。

[0020] 图3A, ES及其变体YH-16可显著改善小鼠的胰岛素抵抗。***代表 $P < 0.001$ 。

[0021] 图3B, ES及其变体YH-16可显著提高小鼠对葡萄糖的耐受能力。***代表 $P < 0.001$ 。

[0022] 图3C, ES可显著提高胰岛素信号通路的下游因子Akt的磷酸化水平。

[0023] 图4A, ES及其变体YH-16、聚乙二醇修饰的ES及其变体YH-16 (mES和mYH-16) 都能够直接抑制脂肪细胞的分化。

[0024] 图4B, ES及其变体YH-16、聚乙二醇修饰的ES及其变体YH-16 (mES和mYH-16) 抑制脂肪细胞分化的定量统计结果。***代表 $P < 0.001$ 。

[0025] 图4C, ES及其变体YH-16, 聚乙二醇修饰的ES及其变体YH-16 (mES和mYH-16) 可显著抑制脂肪细胞分化中心调控因子PPAR γ 1/2的蛋白表达水平。

[0026] 图4D, ES抑制脂肪细胞分化中心调控因子PPAR γ 1/2的mRNA表达水平。*代表 $P < 0.05$; ***代表 $P < 0.001$ 。

[0027] 图5A, 聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007 (mES、m003和m007) 可显著抑制高脂饮

食引起的小鼠体重增长。***代表 $P < 0.001$ 。

[0028] 图5B,聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007 (mES、m003和m007) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠脂肪组织重量增加。*代表 $P < 0.05$,**代表 $P < 0.01$,***代表 $P < 0.001$ 。

[0029] 图5C,聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007 (mES、m003和m007) 对高脂饮食小鼠的肺脏、心脏和肾脏的重量没有影响。

[0030] 图6A,聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007 (mES、m003和m007) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加。*代表 $P < 0.05$,**代表 $P < 0.01$ 。

[0031] 图6B,聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007 (mES、m003和m007) 处理组小鼠肝脏组织切片。

[0032] 图6C,聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007 (mES、m003和m007) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏脂肪沉积。***代表 $P < 0.001$ 。

[0033] 图7A,聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007 (mES、m003和m007) 都能够直接抑制脂肪细胞的分化。

[0034] 图7B,聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007 (mES、m003和m007) 抑制脂肪细胞分化的定量结果。***代表 $P < 0.001$ 。

[0035] 图8A,聚乙二醇修饰的ES变体Z101 (mZ101) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠体重增长。**代表 $P < 0.01$,***代表 $P < 0.001$ 。

[0036] 图8B,聚乙二醇修饰的ES变体Z101 (mZ101) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠脂肪组织重量增加。***代表 $P < 0.001$ 。

[0037] 图8C,聚乙二醇修饰的ES变体Z101 (mZ101) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加。*代表 $P < 0.05$ 。

[0038] 图8D,聚乙二醇修饰的ES变体Z101 (mZ101) 对高脂饮食小鼠的肺脏、心脏和肾脏的重量没有影响。

[0039] 图9A,聚乙二醇修饰的ES变体Z101 (mZ101) 能够直接抑制脂肪细胞的分化。

[0040] 图9B,聚乙二醇修饰的ES变体Z101 (mZ101) 抑制脂肪细胞分化的定量结果。***代表 $P < 0.001$ 。

[0041] 图10A,聚乙二醇修饰的ES变体009和S03 (m009和mS03) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠体重增长。**代表 $P < 0.01$,***代表 $P < 0.001$ 。

[0042] 图10B,聚乙二醇修饰的ES变体009和S03 (m009和mS03) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠脂肪组织重量增加。***代表 $P < 0.001$ 。

[0043] 图10C,聚乙二醇修饰的ES变体009和S03 (m009和mS03) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加。*代表 $P < 0.05$ 。

[0044] 图10D,聚乙二醇修饰的ES变体009和S03 (m009和mS03) 对高脂饮食小鼠的肺脏、心脏和肾脏的重量没有影响。

[0045] 图11A,聚乙二醇修饰的ES变体009和S03 (m009和mS03) 都能够直接抑制脂肪细胞的分化。

[0046] 图11B,聚乙二醇修饰的ES变体009和S03 (m009和mS03) 抑制脂肪细胞分化的定量结果。***代表 $P < 0.001$ 。

[0047] 图12A,聚乙二醇修饰的ES变体36和249 (m36和m249) 可显著抑制高脂饮食引起的

小鼠体重增长。**代表 $P < 0.01$,***代表 $P < 0.001$

[0048] 图12B,聚乙二醇修饰的ES变体36和249 (m36和m249) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠脂肪组织重量增加。*代表 $P < 0.05$,**代表 $P < 0.01$,***代表 $P < 0.05$

[0049] 图12C,聚乙二醇修饰的ES变体36和249 (m36和m249) 可显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加。*代表 $P < 0.05$,**代表 $P < 0.01$

[0050] 图12D,聚乙二醇修饰的ES变体36和249 (m36和m249) 对高脂饮食小鼠的肺脏、心脏和肾脏的重量没有影响。

[0051] 图13,ES变体003的氨基酸序列。

[0052] 图14,ES变体007的氨基酸序列。

[0053] 图15,ES变体Z101的氨基酸序列。

[0054] 图16,ES变体009的氨基酸序列。

[0055] 图17,ES变体S03的氨基酸序列。

[0056] 图18,ES变体36的氨基酸序列。

[0057] 图19,ES变体249的氨基酸序列。

[0058] 图20,ES的氨基酸序列。

[0059] 图21,ES变体YH-16的氨基酸序列。

[0060] 图22,ES变体381、57、114和124的氨基酸序列。

[0061] 图23,ES变体125、160、163和119的氨基酸序列。

具体实施方式

[0062] 本发明提供了血管内皮抑制素或其功能性变体在制备用于治疗饮食性肥胖、非酒精性脂肪肝、胰岛素抵抗或葡萄糖耐受不良的药物中的用途。

[0063] 本发明提供了血管内皮抑制素或其功能性变体在制备用于抑制脂肪细胞分化的药物中的用途。

[0064] 在一些实施方案中,所述功能性变体可以是YH-16、003、007、Z101、ES006、ES008、ES011、S02、S09、Z006、Z008、ZN1、009、S03、36、249、381、57、114、124、125、160、163、119、mES、mYH-16、m003、m007、mZ101、mES006、mES008、mES011、mS02、mS09、mZ006、mZ008、mZN1、m009、mS03、m36、m249、m381、m57、m114、m124、m125、m160、m163或m119。在本发明的优选实施方案中,所述功能性变体可以是YH-16、003、007、Z101、009、S03、36、249、mES、mYH-16、m003、m007、mZ101、m009、mS03、m36或m249。

[0065] 本文所用的术语“功能性变体”包括在氨基酸序列中含有一个或多个(例如1-5个、1-10个或者1到15个,具体地,例如可以是1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12个甚至更多个)氨基酸的取代、缺失或添加的血管内皮抑制素的突变体,以及对血管内皮抑制素或其突变体进行化学修饰,例如聚乙二醇修饰,而获得的衍生物,并且所述突变体和衍生物具有与血管内皮抑制素基本相同的抑制脂肪细胞分化的活性。例如,聚乙二醇(PEG)修饰的ES和YH-16分别命名为mES和mYH-16,它们分别是一个分子量为20kDa的单甲氧基聚乙二醇丙醛(mPEG-ALD)修饰一个ES或YH-16分子得到的产物,偶联的位点是活化的mPEG-ALD醛基与ES或YH-16的N-末端 α -氨基(其他的ES突变体以及该突变体的聚乙二醇修饰后的衍生物采用相似的修饰方案及命名方式)。例如,在本发明的具体实施方案中,YH-16、003、007、Z101、009、S03、36和

249是血管内皮抑制素的特别优选的突变体;mES、mYH-16、m003、m007、mZ101、m009、mS03、m36和m249分别是ES、YH-16、003、007、Z101、009、S03、36和249的优选的衍生物。PCT国际申请PCT/CN2012/081210(在此以引用的方式将其全部内容并入本文)中还提供了血管内皮抑制素的多种突变体,例如ES006、ES008、ES011、S02、S09、Z006、Z008、ZN1等。本文所用的术语“功能性变体”或“变体”涵盖血管内皮抑制素的突变体及衍生物。

[0066] 本发明还提供了一种治疗饮食性肥胖、非酒精性脂肪肝、胰岛素抵抗或葡萄糖耐受不良的方法,包括给予受试者治疗有效量的血管内皮抑制素或其功能性变体。

[0067] 本文所用的术语“治疗有效量”指的是足以在受试者体内引起临床医师所期望的生物学或医学反应的活性化合物的量。血管内皮抑制素或其功能性变体的“治疗有效量”可由本领域技术人员根据给药途径、受试者的体重、年龄、病情等因素而确定。例如,典型的日剂量范围可以为每kg体重0.01mg至100mg活性成分。

[0068] 本发明所提供的药物可以制成粉末、注射剂等临床可接受的剂型,并通过注射等常规方式给药。

[0069] 本发明还提供了一种抑制脂肪细胞分化的方法,包括给予受试者治疗有效量的血管内皮抑制素或其功能性变体。

[0070] 本发明还提供了一种用于治疗饮食性肥胖、非酒精性脂肪肝、胰岛素抵抗或葡萄糖耐受不良的药物,包含作为活性成分的血管内皮抑制素或其功能性变体。

[0071] 饮食性肥胖是指由于饮食中的热量超过机体能量消耗,导致过剩的热量以脂肪的形式储存在体内而引起的肥胖。

[0072] 非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 是一种与胰岛素抵抗和遗传易感密切相关的代谢应激性肝脏损伤,其病理学改变与酒精性肝病 (ALD) 相似,但患者无过量饮酒史的临床病理综合征。

[0073] 胰岛素抵抗 (insulin resistance), 也称胰岛素耐受,是指机体对胰岛素的反应不敏感,从而使得胰岛素促进葡萄糖的摄取和利用的生物学效应低于正常水平的现象,亦即机体需要更高的胰岛素浓度才能对胰岛素产生反应。胰岛素抵抗引起的血浆中高胰岛素和高糖含量经常导致代谢综合征、痛风和2型糖尿病。

[0074] 葡萄糖耐受不良是指机体葡萄糖代谢能力下降导致的对血糖浓度调节能力的下降,表现为在大量摄取葡萄糖后不能及时将血糖水平调节至正常,如不及时治疗干预可发展为糖尿病。

[0075] 小鼠体重抑制率 = $\{1 - \text{给药组体重增加} / \text{高脂饮食组体重增加}\} \times 100\%$ 。

[0076] 小鼠脂肪积累抑制率 = $\{1 - \text{给药组脂肪组织重量} / \text{高脂饮食组脂肪组织重量}\} \times 100\%$ 。

[0077] 小鼠肝脏重量抑制率 = $\{1 - \text{给药组肝脏重量} / \text{高脂饮食组肝脏重量}\} \times 100\%$ 。

[0078] 小鼠肝脏脂肪沉积抑制率 = $\{1 - \text{给药组肝胞质空泡率} / \text{高脂饮食组肝胞质空泡率}\} \times 100\%$ 。

[0079] 本发明的实施例中使用的ES及其变体蛋白均由北京普罗吉公司提供。

[0080] 实施例1、ES和YH-16显著抑制高脂饮食引起的小鼠体重增加

[0081] 取24只健康的C57BL/6小鼠(7周龄,雄性,购自北京维通利华公司),分为4组,每组8只,分别作如下处理:

[0082] 第一组:正常饮食组;

[0083] 第二组:高脂饮食组;

[0084] 第三组:高脂饮食+ES组(给药组);

[0085] 第四组:高脂饮食+YH-16组(给药组)。

[0086] 正常饮食组以摄入热卡的10%来自于脂肪成分的饲料(D12450J, Research Diets, USA)饲养小鼠;高脂饮食以摄入热卡的60%来自于脂肪成分的饲料(D12492, Research Diets, USA)饲养小鼠。

[0087] 给药方式为:第三组和第四组每天腹腔注射一次ES或YH-16(Protgen),剂量为12mg/kg/天,第二组注射等体积生理盐水,第一组不注射,周期为60天。将第一次注射的时间设为第0天,第59天完成最后一次给药,每三天称量小鼠体重一次,第60天(即最后一次给药后一天)进行最后一次体重测量,绘制体重曲线(图1A)。结果显示,ES和YH-16均能够显著抑制高脂饮食引起的体重增加,抑制率分别为37.5%和30.6%(表1)。

[0088] 第61天完成葡萄糖耐受测试后,处死小鼠,分离全身脂肪组织,并称重(图1B,表1)。结果显示,ES和YH-16组小鼠脂肪组织重量明显小于未给药高脂饮食组,ES和YH-16对于高脂饮食引起的小鼠脂肪积累的抑制率分别为47.7%和42.2%(表1)。

[0089] 分离小鼠肺脏、心脏和肾脏,并称重(图1C,表1)。结果显示,四组小鼠之间肺脏、心脏和肾脏的重量没有显著性差异,说明ES和YH-16对小鼠肺脏、心脏和肾脏没有影响。

[0090] 实施例2、ES和YH-16显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加和脂肪沉积

[0091] 实施例1中小鼠,第61天完成葡萄糖耐受测试后,取出肝脏组织,称重(图2A,表1)。ES和YH-16抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加,抑制率分别为23.8%和20.5%。

[0092] 将肝脏组织固定并用石蜡包埋,制成8 μ m厚的切片,进行组织HE染色。主要步骤包括:切片脱蜡复水后,依次使用入苏木素和伊红染色,后进行常规脱水,封片,使用常规光学显微镜(Olympus IX71显微镜)观察并拍照记录(图2B)。HE染色显示,高脂饮食组小鼠肝脏切片中出现肝细胞胞质脂肪空泡,表明高脂饮食能够引起小鼠肝脏中的脂肪沉积,而ES和YH-16给药处理组的小鼠肝脏中的脂肪沉积明显少于未给药高脂饮食组,抑制率分别是78.9%和75.2%,抑制率(图2C)。这说明ES和YH-16对非酒精性脂肪肝有明显抑制作用。

[0093] 实施例3、ES和YH-16显著改善小鼠胰岛素抵抗和葡萄糖耐受不良

[0094] 实施例1中的小鼠,第59天完成给药6小时后,进行胰岛素耐受测试。具体步骤包括:剪鼠尾取血,检测基础血糖值(罗氏手持式血糖仪),将该监测点时间设为0分钟。腹腔注射人胰岛素(诺和灵R,诺和诺德)0.5U/kg,分别在注射胰岛素后20分钟,40分钟,60分钟,80分钟时取血,测小鼠血糖,绘制曲线(图3A)。发现注射胰岛素后,随着时间的推移正常饮食组小鼠血糖水平快速降低,高脂饮食组小鼠血糖水平降低速度慢,说明高脂饮食会引起小鼠的胰岛素抵抗,而ES和YH-16可显著缓解高脂饮食引起的胰岛素抵抗。

[0095] 实施例1中的小鼠,第60天测量体重后,对小鼠进行饥饿过夜处理,第61天进行葡萄糖耐受测试。具体步骤包括:剪鼠尾取血,检测基础血糖值(罗氏手持式血糖仪),将该监测点时间设为0分钟。对小鼠进行葡萄糖溶液(20mg/ml)灌胃,每只鼠每克体重灌1mg葡萄糖,分别在灌胃后20分钟,40分钟,60分钟,80分钟时取血,测小鼠血糖,绘制曲线(图3B)。发现葡萄糖灌胃后,随着时间的推移,与正常饮食组小鼠相比高脂饮食最小鼠血糖值快速上升且回复速度慢,说明高脂饮食会导致小鼠葡萄糖耐受不良,而ES和YH-16给药组小鼠葡萄

糖耐受不良得到显著改善。

[0096] 第61天完成葡萄糖耐受测试后,处死小鼠,分离全身脂肪组织,并用Western blot检测脂肪组织中Akt的磷酸化水平(图3C)。结果显示,与正常饮食组相比,高脂饮食组Akt磷酸化水平降低,而ES给药组Akt磷酸化水平高于高脂饮食组。Akt通路是胰岛素下游重要的血糖调控通路。胰岛素抵抗和Akt磷酸化水平降低往往伴随发生。这与ES能够有效改善胰岛素抵抗和葡萄糖耐受不良的结果相一致。

[0097] 实施例4、ES和YH-16显著抑制脂肪前体细胞向脂肪细胞分化

[0098] 选取状态良好的3T3-L1脂肪前体细胞,以含10%小牛血清的DMEM培养基重悬,种入六孔板中,将六孔板放入细胞培养箱,5%二氧化碳,37℃正常培养。细胞长满两天后,开始诱导分化:第一步、加MDI诱导培养基诱导(将此时定义为细胞培养分化的第1天);第二步、两天后换胰岛素诱导培养基,继续培养两天;第三步、换含10%FBS的DMEM培养液继续培养,直到第8天,3T3-L1分化为脂肪细胞。实验分为5组:

[0099] 第一组:对照组;

[0100] 第二组:ES处理组;

[0101] 第三组:YH-16处理组;

[0102] 第四组:mES处理组;

[0103] 第五组:Myh-16处理组。

[0104] 其中,给药处理组在诱导分化期间(即第1天到第8天)分别额外加入50μg/ml的ES、YH-16、mES或mYH-16,对照组加等体积蛋白缓冲液,每次换液均重新加入以上药物及对照处理。

[0105] MDI诱导液是在含10%FBS的DMEM培养液中加入1μM地塞米松、0.5mM 3-异丁基-1-甲基黄嘌呤和10μg/mL牛胰岛素;胰岛素诱导培养基是在含10%FBS的DMEM培养液中加入10μg/mL牛胰岛素。

[0106] 诱导结束后,弃六孔板内培养基,固定后加油红染色10分钟。脱色,用PBS漂洗三次,除去多余的染料。油红能够识别脂肪细胞中的油脂,比将其染成红色。数码相机对六孔板进行拍照,倒置显微镜(Olympus IX71显微镜)观察并拍照记录(图4A)。结果显示,ES、YH-16、mES和mYH-16均能直接抑制脂肪前体细胞分化为脂肪细胞(图4B)。

[0107] 诱导过程中的第6天,弃培养基,收取细胞,加入100ul 2X SDS电泳上样缓冲液,100℃煮样15分钟,经电泳、转膜,用免疫印迹检测各组全细胞裂解液中脂肪细胞分化中心控制因子PPAR γ 1和PPAR γ 2的表达水平(图4C)。发现在脂肪细胞分化过程中,ES、YH-16、mES和mYH-16均能抑制脂肪细胞分化中心控制转录因子PPAR γ 1和PPAR γ 2的蛋白表达水平。

[0108] 检测PPAR γ 1和PPAR γ 2的mRNA表达水平:3T3-L1诱导前(0天)和诱导过程中的第6天,按照TRIZOL试剂(购自Invitrogen)说明书的标准操作提取细胞总RNA。用Fermentas反转录试剂盒(RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kits)进行反转录,反应按照说明书标准进行。

[0109] 使用荧光定量Real-Time PCR检测脂肪细胞分化中心调控因子PPAR γ 1/2。荧光定量Real-Time PCR使用Stratagene试剂盒(Brilliant II SYBR®GreenQRT-PCR Master Mix),荧光定量PCR仪器为MX3000P(购自Stratagene),荧光染料为SYBR Green,反应体系为

20 μ L,反应循环数为40个。

[0110] PCR运行程序:95 $^{\circ}$ C变性,10秒;60 $^{\circ}$ C退火延伸,30秒,反应体系为20 μ L,反应循环数40个循环,最后是72 $^{\circ}$ C保持5分钟。内参为GAPDH。反应引物如下:

[0111] PPAR γ 1正向引物(5' -3'):ACAAGATTTGAAAGAAGCGGTGA

[0112] PPAR γ 1反向引物(5' -3'):GCTTGATGTCAAAGGAATGCGAAGGA

[0113] PPAR2正向引物(5' -3'):CGCTGATGCACTGCCTATGAG

[0114] PPAR2反向引物(5' -3'):TGGGTCAGCTCTTGTGAATGGAA

[0115] GAPDH正向引物(5' -3'):CCAGCCTCGTCCCGTAGACA

[0116] GAPDH反向引物(5' -3'):TGAATTTGCCGTGAGTGGAGTC

[0117] 以内参为GAPDH,根据仪器给出的荧光图得到 ΔC_t 值,计算出相对 $\Delta(\Delta C_t)$ 值,进而计算出PPAR γ 1和PPAR γ 2的mRNA水平的相对变化(图4D)。发现在脂肪细胞分化过程中,ES能抑制脂肪细胞分化中心控制转录因子PPAR γ 1和PPAR γ 2的mRNA表达水平。

[0118] 实施例5、聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007(mES、m003和m007)显著抑制高脂饮食引起的小鼠体重增加

[0119] 取40只健康的C57BL/6小鼠(7周龄,雄性,购自北京维通利华公司),分为5组,每组8只,分别作如下处理:

[0120] 第一组:正常饮食组;

[0121] 第二组:高脂饮食组;

[0122] 第三组:高脂饮食+mES组(给药组);

[0123] 第四组:高脂饮食+m003组(给药组);

[0124] 第五组:高脂饮食+m007组(给药组)。

[0125] 各饮食组饲料同实施例1。

[0126] 给药方式为:第三组、第四组和第五组每周尾静脉注射一次mES、m003或m007(Protgen),剂量为50mg/kg/周,第二组注射等体积生理盐水,第一组不注射,周期为8周。将第一次注射的时间设为第0周,第7周完成最后一次给药,每周称量小鼠体重一次,第8周最后一次称量小鼠体重后,绘制体重曲线(图5A)。结果显示,mES、m003和m007均能够显著抑制高脂饮食引起的体重增加,抑制率分别为33.7%、22.9%和42.9%(表2)。

[0127] 第8周最后一次称量小鼠体重后,处死小鼠,分离全身脂肪组织,并称重(图5B,表2)。结果显示,mES、m003和m007组小鼠脂肪组织重量明显小于未给药高脂饮食组,mES、m003和m007对于高脂饮食引起的小鼠脂肪积累的抑制率分别为41.4%、31.9%和40.5%(表2)。

[0128] 分离小鼠肺脏、心脏和肾脏,并称重(图5C,表2)。结果显示,五组小鼠之间肺脏、心脏和肾脏的重量没有显著性差异,说明mES、m003和m007对小鼠肺脏、心脏和肾脏没有影响。

[0129] 实施例6、聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007(mES、m003和m007)显著抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加和脂肪沉积

[0130] 实施例5中小鼠,第8周最后一次称量小鼠体重后,取出肝脏组织,称重(图6A,表2)。结果显示,mES、m003和m007抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加,抑制率分别为21.3%、21.3%和25.2%(表2)。

[0131] 按照实施例2中实验方法将肝脏组织固定并用石蜡包埋切片,进行组织HE染色。使用常规光学显微镜(Olympus IX71显微镜)观察并拍照记录肝脏组织形态(图6B)。HE染色显

示,mES、m003和m007给药处理组的小鼠肝脏中的脂肪沉积明显少于未给药高脂饮食组,抑制率分别是70.6%、56.1%和73.1%(图6C)。这说明mES、m003和m007对非酒精性脂肪肝有明显抑制作用。

[0132] 实施例7、聚乙二醇修饰的ES及其变体003和007(mES、m003和m007)显著抑制脂肪前体细胞向脂肪细胞分化

[0133] 3T3-L1脂肪前体细胞培养、诱导分化同实施例4。实验分为4组:

[0134] 第一组:对照组;

[0135] 第二组:mES处理组;

[0136] 第三组:m003处理组;

[0137] 第四组:m007处理组。

[0138] 其中,给药处理组在诱导分化期间(即第1天到第8天)分别额外加入50 μ g/ml的mES、m003或m007,对照组加等体积蛋白缓冲液,每次换液均重新加入以上药物及对照处理。

[0139] 诱导结束后,按照实施例4中实验方法对细胞进行油红染色。数码相机对六孔板进行拍照,倒置显微镜(Olympus IX71显微镜)观察并拍照记录(图7A)。结果显示,mES、m003和m007均能直接抑制脂肪前体细胞分化为脂肪细胞,其中mES和m007抑制效果优于m003(图7B)。这与实施例6中的动物实验结果相一致,这也解释了mES和m007对于高脂饮食动物体重增长抑制效果好于m003的原因。

[0140] 实施例8、聚乙二醇修饰的ES变体Z101(mZ101)显著抑制高脂饮食引起的小鼠体重增加

[0141] 实验小鼠准备(每组8只小鼠)、饮食(饲料)、给药方式、给药周期及小鼠体重称量均同实施例5。实验分组如下:

[0142] 第一组:正常饮食组;

[0143] 第二组:高脂饮食组;

[0144] 第三组:高脂饮食+mZ101组(给药组)。

[0145] 其中给药剂量为12mg/kg/周。

[0146] 第8周最后一次称量小鼠体重后,绘制体重曲线(图8A)。结果显示,mZ101能够显著抑制高脂饮食引起的体重增加,抑制率为31%(表3)。

[0147] 第8周最后一次称量小鼠体重后,处死小鼠,分离全身脂肪组织和肝脏,并称重(图8B和C,表3)。结果显示,mZ101组小鼠脂肪组织重量明显小于未给药高脂饮食组,脂肪积累的抑制率为77.2%(表3)。mZ101也能够抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加,抑制率为21.5%(表3)。

[0148] 分离小鼠肺脏、心脏和肾脏,并称重(图8D,表3)。结果显示,五组小鼠之间肺脏、心脏和肾脏的重量没有显著性差异,说明mZ101对小鼠肺脏、心脏和肾脏没有影响。

[0149] 实施例9、聚乙二醇修饰的ES变体Z101(mZ101)显著抑制脂肪前体细胞向脂肪细胞分化

[0150] 3T3-L1脂肪前体细胞培养、诱导分化同实施例4。实验分为2组:

[0151] 第一组:对照组;

[0152] 第二组:mZ101处理组。

[0153] 其中,给药处理组在诱导分化期间(即第1天到第8天)额外加入50 μ g/ml的mZ101

(Protgen), 对照组加等体积蛋白缓冲液, 每次换液均重新加入以上药物及对照处理。

[0154] 诱导结束后, 按照实施例4中实验方法对细胞进行油红染色。数码相机对六孔板进行拍照, 倒置显微镜 (Olympus IX71显微镜) 观察并拍照记录 (图9A)。结果显示, mZ101能直接抑制脂肪前体细胞分化为脂肪细胞 (图9B)。

[0155] 实施例10、聚乙二醇修饰的ES变体009和S03 (m009和mS03) 显著抑制高脂饮食引起的小鼠体重增加, 且mS03的抑制效果优于m009

[0156] 实验小鼠准备 (每组8只小鼠)、饮食 (饲料)、给药方式、给药周期及小鼠体重称量均同实施例5。实验分组如下:

[0157] 第一组: 正常饮食组;

[0158] 第二组: 高脂饮食组;

[0159] 第三组: 高脂饮食+m009组 (给药组);

[0160] 第四组: 高脂饮食+mS03组 (给药组)。

[0161] 其中给药剂量为12mg/kg/周。

[0162] 第8周最后一次称量小鼠体重后, 绘制体重曲线 (图10A)。结果显示, m009和mS03均能够显著抑制高脂饮食引起的体重增加, 抑制率分别为10.6%和19.0% (表4)。

[0163] 第8周最后一次称量小鼠体重后, 处死小鼠, 分离全身脂肪组织和肝脏, 并称重 (图10B和C, 表4)。结果显示, m009和mS03组小鼠脂肪组织重量明显小于未给药高脂饮食组, m009和mS03对于高脂饮食引起的小鼠脂肪积累的抑制率分别为45.7%和59.5% (表4)。m009和mS03也能够抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加, 抑制率分别为16.7%和25.7% (表4)。

[0164] 分离小鼠肺脏、心脏和肾脏, 并称重 (图10D, 表4)。结果显示, 4组小鼠之间肺脏、心脏和肾脏的重量没有显著性差异, 说明m009和mS03对小鼠肺脏、心脏和肾脏没有影响。

[0165] 实施例11、聚乙二醇修饰的ES变体009和S03 (m009和mS03) 显著抑制脂肪前体细胞向脂肪细胞分化

[0166] 3T3-L1脂肪前体细胞培养、诱导分化同实施例4。实验分为3组:

[0167] 第一组: 对照组;

[0168] 第二组: m009处理组;

[0169] 第三组: mS03处理组。

[0170] 其中, 给药处理组在诱导分化期间 (即第1天到第8天) 分别额外加入50 μ g/ml的m009或mS03, 对照组加等体积蛋白缓冲液, 每次换液均重新加入以上药物及对照处理。

[0171] 诱导结束后, 按照实施例4中实验方法对细胞进行油红染色。数码相机对六孔板进行拍照, 倒置显微镜 (Olympus IX71显微镜) 观察并拍照记录 (图11A)。结果显示, m009和mS03均能直接抑制脂肪前体细胞分化为脂肪细胞, 其中mS03的抑制效果优于m009 (图11B)。这与实施例9中的动物实验结果相一致, 这也解释了mS03对于高脂饮食动物体重增长抑制效果好于m009的原因。

[0172] 实施例12、聚乙二醇修饰的ES变体36和249 (m36和m249) 显著抑制高脂饮食引起的小鼠体重增加

[0173] 实验小鼠准备 (每组8只小鼠)、饮食 (饲料)、给药方式、给药周期及小鼠体重称量均同实施例5。实验分组如下:

[0174] 第一组:正常饮食组;

[0175] 第二组:高脂饮食组;

[0176] 第三组:高脂饮食+m36组,给药剂量6mg/kg/周(给药组);

[0177] 第四组:高脂饮食+m36组,给药剂量12mg/kg/周(给药组);

[0178] 第五组:高脂饮食+m249组,给药剂量6mg/kg/周(给药组);

[0179] 第六组:高脂饮食+m249组,给药剂量12mg/kg/周(给药组)。

[0180] 第8周最后一次称量小鼠体重后,绘制体重曲线(图12A)。结果显示,低剂量m36(6mg/kg/周)和高剂量m249(12mg/kg/周)均能够显著抑制高脂饮食引起的体重增加,抑制率分别为30.3%和50.3%(表5)。

[0181] 第8周最后一次称量小鼠体重后,处死小鼠,分离全身脂肪组织和肝脏,并称重(图12B和C,表5)。结果显示,低剂量m36(6mg/kg/周)组和高剂量m249(12mg/kg/周)组小鼠脂肪组织重量明显小于未给药高脂饮食组,低剂量m36(6mg/kg/周)和高剂量m249(12mg/kg/周)对于高脂饮食引起的小鼠脂肪积累的抑制率分别为30%和38.4%(表5)。低剂量m36(6mg/kg/周)和高剂量m249(12mg/kg/周)也能够抑制高脂饮食引起的小鼠肝脏重量增加,抑制率分别为18.4%和22.9%(表5)。

[0182] 分离小鼠肺脏、心脏和肾脏,并称重(图12D)。结果显示,六组小鼠之间肺脏、心脏和肾脏的重量没有显著性差异,说明m36和m249对小鼠肺脏、心脏和肾脏没有影响。

[0183] 表1

	正常饮食组	高脂饮食组	高脂饮食+ES组	高脂饮食+YH-16组
给药前小鼠体重 (g)	22.4 ± 0.83	23.5 ± 0.88	23.4 ± 1.25	23.5 ± 1.04
给药后小鼠体重 (g)	28.1 ± 0.89	37.9 ± 1.35	32.4 ± 0.83	33.5 ± 0.97
小鼠体重增加 (g)	5.7 ± 0.79	14.4 ± 2.51	9.0 ± 1.84	10.00 ± 1.61
给药后小鼠脂肪组织重量 (g)	0.66 ± 0.13	2.89 ± 0.59	1.51 ± 0.67	1.67 ± 0.48
给药后小鼠肝脏重量 (g)	0.86 ± 0.15	1.22 ± 0.18	0.93 ± 0.14	0.97 ± 0.12
给药后小鼠心脏重量 (g)	0.133 ± 0.006	0.131 ± 0.007	0.132 ± 0.008	0.138 ± 0.009
给药后小鼠肺脏重量 (g)	0.141 ± 0.018	0.142 ± 0.008	0.142 ± 0.006	0.147 ± 0.012
给药后小鼠肾脏重量 (g)	0.181 ± 0.014	0.18 ± 0.01	0.189 ± 0.015	0.191 ± 0.010

[0185] 表2

[0186]

	正常饮食组	高脂饮食组	高脂饮食 +mES组	高脂饮食 +m003组	高脂饮食 +m007组
给药前小鼠体重 (g)	22.4 ± 0.83	24.5 ± 1.06	24.5 ± 1.14	23.6 ± 1.09	22.9 ± 1.38
给药后小鼠体重 (g)	27.5 ± 0.94	38.5 ± 1.06	33.8 ± 0.72	34.4 ± 1.38	31.2 ± 1.25
小鼠体重增加 (g)	5.1 ± 0.87	14.0 ± 0.82	9.28 ± 0.91	10.8 ± 1.95	7.99 ± 0.95
给药后小鼠脂肪组织重量 (g)	0.66 ± 0.13	3.04 ± 0.30	1.78 ± 0.43	1.81 ± 0.59	2.07 ± 0.81
给药后小鼠肝脏重量 (g)	0.86 ± 0.15	1.27 ± 0.16	1.00 ± 0.10	0.95 ± 0.18	1.00 ± 0.18
给药后小鼠心脏重量 (g)	0.14 ± 0.020	0.15 ± 0.008	0.15 ± 0.012	0.15 ± 0.017	0.14 ± 0.010
给药后小鼠肺脏重量 (g)	0.133 ± 0.006	0.134 ± 0.006	0.134 ± 0.005	0.132 ± 0.012	0.130 ± 0.007
给药后小鼠肾脏重量 (g)	0.181 ± 0.014	0.185 ± 0.014	0.181 ± 0.018	0.186 ± 0.014	0.186 ± 0.014

[0187] 表3

[0188]

	正常饮食组	高脂饮食组	高脂饮食+mZ101组
给药前小鼠体重 (g)	20.9 ± 0.40	21.1 ± 0.42	20.7 ± 0.31
给药后小鼠体重 (g)	28.5 ± 0.75	35.3 ± 1.75	30.6 ± 2.21
小鼠体重增加 (g)	7.6 ± 0.97	14.2 ± 1.09	9.8 ± 0.98
给药后小鼠脂肪组织重量 (g)	0.26 ± 0.05	2.89 ± 0.49	0.66 ± 0.32
给药后小鼠肝脏重量 (g)	1.14 ± 0.19	1.44 ± 0.13	1.13 ± 0.06
给药后小鼠心脏重量 (g)	0.145 ± 0.018	0.163 ± 0.014	0.155 ± 0.007
给药后小鼠肺脏重量 (g)	0.16 ± 0.031	0.16 ± 0.019	0.17 ± 0.010
给药后小鼠肾脏重量 (g)	0.21 ± 0.010	0.24 ± 0.015	0.21 ± 0.009

[0189] 表4(图11)

[0190]

	正常饮食组	高脂饮食组	高脂饮食 +m009组	高脂饮食 +mS03组
给药前小鼠体重 (g)	20.9 ± 0.40	21.1 ± 0.42	20.8 ± 0.35	20.9 ± 0.44
给药后小鼠体重 (g)	28.5 ± 0.75	35.3 ± 1.75	33.5 ± 1.80	32.4 ± 2.35
小鼠体重增加 (g)	7.6 ± 0.97	14.2 ± 1.09	12.7 ± 1.03	11.5 ± 0.80
给药后小鼠脂肪组织重量 (g)	0.26 ± 0.05	2.89 ± 0.49	1.57 ± 0.64	1.17 ± 0.29
给药后小鼠肝脏重量 (g)	1.14 ± 0.19	1.44 ± 0.13	1.20 ± 0.24	1.07 ± 0.15
给药后小鼠心脏重量 (g)	0.145 ± 0.018	0.163 ± 0.014	0.156 ± 0.011	0.159 ± 0.020
给药后小鼠肺脏重量 (g)	0.16 ± 0.031	0.16 ± 0.019	0.16 ± 0.019	0.16 ± 0.032
给药后小鼠肾脏重量 (g)	0.21 ± 0.010	0.24 ± 0.015	0.22 ± 0.010	0.23 ± 0.011

[0191]

表5 (图12)

	正常饮食组	高脂饮食组	高脂饮食+m36组 6mg/kg/周	高脂饮食+m36组 12mg/kg/周	高脂饮食+m249组 6mg/kg/周	高脂饮食+m249组 12mg/kg/周
给药前小鼠体重 (g)	25.4 ± 1.06	25.4 ± 1.24	25.1 ± 1.87	25.5 ± 1.71	25.0 ± 0.64	25.5 ± 0.98
给药后小鼠体重 (g)	34.9 ± 2.31	44.9 ± 2.02	38.7 ± 2.02	44.1 ± 2.04	40.6 ± 3.03	35.2 ± 3.03
小鼠体重增加 (g)	9.5 ± 2.64	19.5 ± 2.43	13.6 ± 3.73	18.6 ± 3.06	15.6 ± 2.48	9.7 ± 2.42
给药后小鼠脂肪 组织重量 (g)	1.09 ± 0.39	2.50 ± 0.33	1.75 ± 0.44	2.49 ± 0.46	2.15 ± 0.44	1.54 ± 0.76
给药后小鼠肝脏 重量 (g)	1.34 ± 0.12	1.79 ± 0.29	1.46 ± 0.17	1.73 ± 0.18	1.66 ± 0.21	1.38 ± 0.21
给药后小鼠心脏 重量 (g)	0.21 ± 0.010	0.23 ± 0.029	0.25 ± 0.020	0.21 ± 0.024	0.22 ± 0.018	0.22 ± 0.034
给药后小鼠肺脏 重量 (g)	0.183 ± 0.033	0.197 ± 0.020	0.190 ± 0.032	0.204 ± 0.031	0.201 ± 0.037	0.208 ± 0.025
给药后小鼠肾脏 重量 (g)	0.22 ± 0.015	0.24 ± 0.019	0.27 ± 0.029	0.24 ± 0.025	0.24 ± 0.042	0.25 ± 0.033

[0192]

本发明涉及的ES及其突变体的名称与相对应的氨基酸序列如下：

ES (SEQ ID NO:1)

(M)HSHRDFQPVLLHVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQAVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAIVPVLKDELLFPSWEALFSGSEGPLKPGARIFSFDGKDVLRHPTWPQKSVW
HGSDPNGRRLTESYCETWRTAPSATGQASSLLGGRLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

YH16 (SEQ ID NO:2)

(M)GGSHHHHHSHRDFQPVLLHVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQAVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAIVPVLKDELLFPSWEALFSGSEGPLKPGARIFSFDGKDVLRHPT
WPQKSVW HGSDPNGRRLTESYCETWRTAPSATGQASSLLGGRLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

003 (SEQ ID NO:3)

(M)HSHRDFQPVLLHVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQAVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAIVPVLKDELLFPSWEALFSAASEGPLKPGARIFSFDGKDVLRHPTWPQKSVW
HGSDPNGRRLTESYCETWRTAPSATGQASSLLGGRLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

007 (SEQ ID NO:4)

(M)HSHRDFQPVLLHVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQAVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAIVPVLKDELLFPSWEALFSASKAPLQPGARIFSFDGKDVLRHPTWPQKSVW
HGSDPNGRRLTESYCETWRTAPSATGQASSLLGGRLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

Z101 (SEQ ID NO:5)

(M)HSHRDFQPVLLHVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQAVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAIVPVLKDELLFPSWEALFSSEGPLKPGARIFSFDGRDVLRLHPTWPQRSVWH
GSDPNGRRLTESYCETWRTAPSATGQASSLLGGRLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASR

009 (SEQ ID NO:6)

(M)HSHQDFQPVLLHVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQAVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAIVPVLKDELLFPSWEALFSSEGPLQPGARIFSFDGKDVLRHPTWPQKSVWH
GSDPNGRRLTESYCETWRTAPSATGQASSLLGGRLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

S03 (SEQ ID NO:7)

(M)DFQPVLLHVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQAVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAIVPVLKDELLFPSWEALFSGESGAGKTPGARIFSFDGKDVLRHPTWPQKSVWHGS
DPNGRRLTESYCETWRTAPSATGQASSLLGGRLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

[0193]

- 36 (SEQ ID NO:8)
(M)RDFQPVLHLVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDELLFPSWEALFSSEGPKPGARIFSFDGKDVLRHPTWPQKSVWHGSD
PNRRLITESYCETWRTAPSATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK
- 249 (SEQ ID NO:9)
(M)RDFQPVLHLVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRGSPVIVNLKDEVLSPSWDSLFSGSQGLQPGARIFSFDGRDILQDSAWPQKSVWHGSD
DAKGRRLPESYCEAWRTDERGTSGQASSLLSGRLLLEQKAASCHNSYIVLCIENSFMTASK
- 381 (SEQ ID NO:10)
(M)HVHQDFQPALHLVALNTPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRTAVPIVNLRDEVLFNWEALFTGSEAPLRAGARIFSFDGRDVLRHPTWPQKSV
WHGSDPNRRLITESYCETWRTAPSATGQASSLLAGRLLLEQKAAGCHNAFIVLCIENSFMTSSK
- 57 (SEQ ID NO:11)
(M)JTHQDFHPVLHLVALNTPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDELLFPSWEALFSGESGAGKTGGARIFSFDGRDVLRHPTWPQKSV
WHGSDPSGRRLITESYCETWRTDRAATGQASSLLAGRLLLEQKAAGCHNAFIVLCIENSFMTSSK
- 114 (SEQ ID NO:12)
(M)HSHRDFQPVHLHLVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDELLFPSWEALFSGSEGLKPGARIFSFDGRDVLRHPTWPQKSVW
HGSDPSGHRLITESYCETWRTDRAATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYIVLCIANSFMTASK
- 124 (SEQ ID NO:13)
(M)DFQPVLHLVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDELLFPSWEALFSGSEGLRPGARIFSFDGKDVLRHPTLPQKSVWHGSDP
SGRRLITESYCETWRTDRAATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK
- 125 (SEQ ID NO:14)
(M)DFQPVLHLVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQAQVGLAGTFRFLSSRLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDELLFPSWEALFSGSEGLRPGARIFSFDGKDVLRHPTLPQKSVWHGSDP
SGRRLITESYCETWRTDRAATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASKK

[0194]

160 (SEQ ID NO:15)

(M)JTHQDFHPVLHLVALNTPLSGGMRGIRGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDELLPSEWALFSGSEGPLKPGARIFSFDFGRDILQDSAWPQKSVW
HGSDPNGRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLSGKLLQSVSSCQHAFVWLCIENSFMTAAKK

119 (SEQ ID NO:16)

(M)JHTTSGPGLHLIALNSPQVGNMRGIRGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSIVRRADRSSVPVNLKDEVLPSPWDSLFSVQQQLQPGARIFSFDFGRDILQDSAWPQKSVWH
GSDPNGRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

163 (SEQ ID NO:17)

(M)JTPTWYPRMLRVAALNEPSTGDLQGIRGADFQCFQQARAVGLSGTFRAFLSSRLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDEVLPSPWDSLFSGSGGQLQPGARIFSFDFGKDVL RHPTWPQKSVW
HGSDPSGRRLMESYCETWRTEATTGATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTNNRK

[0001]	Sequences Listing
[0002]	<110> 清华大学;
[0003]	北京普罗吉生物科技发展有限公司
[0004]	<120> 一种抑制脂肪细胞分化和胰岛素耐受的药物
[0005]	<130> 0049-PI-CN
[0006]	<140> 201580059881.7
[0007]	<160> 23
[0008]	<170> PatentIn version 3.5
[0009]	<210> 1
[0010]	<211> 184
[0011]	<212> PRT
[0012]	<213> Homo sapiens (人)
[0013]	<400> 1
[0014]	Met His Ser His Arg Asp Phe Gln Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu
[0015]	1 5 10 15
[0016]	Asn Ser Pro Leu Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe
[0017]	20 25 30
[0018]	Gln Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg
[0019]	35 40 45
[0020]	Ala Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg
[0021]	50 55 60
[0022]	Ala Asp Arg Ala Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Leu Leu
[0023]	65 70 75 80
[0024]	Phe Pro Ser Trp Glu Ala Leu Phe Ser Gly Ser Glu Gly Pro Leu Lys
[0025]	85 90 95
[0026]	Pro Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Lys Asp Val Leu Arg His
[0027]	100 105 110
[0028]	Pro Thr Trp Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Asn Gly
[0029]	115 120 125
[0030]	Arg Arg Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Glu Ala Pro
[0031]	130 135 140
[0032]	Ser Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly
[0033]	145 150 155 160
[0034]	Gln Ser Ala Ala Ser Cys His His Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu
[0035]	165 170 175
[0036]	Asn Ser Phe Met Thr Ala Ser Lys
[0037]	180
[0038]	<210> 2

[0039]	<211>	192
[0040]	<212>	PRT
[0041]	<213>	人工序列
[0042]	<220>	
[0043]	<223>	ES变体
[0044]	<400>	2
[0045]	Met Gly Gly Ser His His His His His His Ser His Arg Asp Phe Gln	
[0046]	1 5 10 15	
[0047]	Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu Asn Ser Pro Leu Ser Gly Gly Met	
[0048]	20 25 30	
[0049]	Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe Gln Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala	
[0050]	35 40 45	
[0051]	Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg Ala Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln	
[0052]	50 55 60	
[0053]	Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg Ala Asp Arg Ala Ala Val Pro Ile	
[0054]	65 70 75 80	
[0055]	Val Asn Leu Lys Asp Glu Leu Leu Phe Pro Ser Trp Glu Ala Leu Phe	
[0056]	85 90 95	
[0057]	Ser Gly Ser Glu Gly Pro Leu Lys Pro Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe	
[0058]	100 105 110	
[0059]	Asp Gly Lys Asp Val Leu Arg His Pro Thr Trp Pro Gln Lys Ser Val	
[0060]	115 120 125	
[0061]	Trp His Gly Ser Asp Pro Asn Gly Arg Arg Leu Thr Glu Ser Tyr Cys	
[0062]	130 135 140	
[0063]	Glu Thr Trp Arg Thr Glu Ala Pro Ser Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser	
[0064]	145 150 155 160	
[0065]	Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly Gln Ser Ala Ala Ser Cys His His	
[0066]	165 170 175	
[0067]	Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu Asn Ser Phe Met Thr Ala Ser Lys	
[0068]	180 185 190	
[0069]	<210>	3
[0070]	<211>	184
[0071]	<212>	PRT
[0072]	<213>	人工序列
[0073]	<220>	
[0074]	<223>	ES变体
[0075]	<400>	3
[0076]	Met His Ser His Arg Asp Phe Gln Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu	
[0077]	1 5 10 15	

[0078]	Asn Ser Pro Leu Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe
[0079]	20 25 30
[0080]	Gln Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg
[0081]	35 40 45
[0082]	Ala Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg
[0083]	50 55 60
[0084]	Ala Asp Arg Ala Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Leu Leu
[0085]	65 70 75 80
[0086]	Phe Pro Ser Trp Glu Ala Leu Phe Ser Ala Ser Glu Gly Pro Leu Lys
[0087]	85 90 95
[0088]	Pro Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Lys Asp Val Leu Arg His
[0089]	100 105 110
[0090]	Pro Thr Trp Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Asn Gly
[0091]	115 120 125
[0092]	Arg Arg Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Glu Ala Pro
[0093]	130 135 140
[0094]	Ser Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly
[0095]	145 150 155 160
[0096]	Gln Ser Ala Ala Ser Cys His His Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu
[0097]	165 170 175
[0098]	Asn Ser Phe Met Thr Ala Ser Lys
[0099]	180
[0100]	<210> 4
[0101]	<211> 184
[0102]	<212> PRT
[0103]	<213> 人工序列
[0104]	<220>
[0105]	<223> ES变体
[0106]	<400> 4
[0107]	Met His Ser His Arg Asp Phe Gln Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu
[0108]	1 5 10 15
[0109]	Asn Ser Pro Leu Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe
[0110]	20 25 30
[0111]	Gln Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg
[0112]	35 40 45
[0113]	Ala Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg
[0114]	50 55 60
[0115]	Ala Asp Arg Ala Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Leu Leu
[0116]	65 70 75 80

[0117]	Phe	Pro	Ser	Trp	Glu	Ala	Leu	Phe	Ser	Ala	Ser	Lys	Ala	Pro	Leu	Gln
[0118]					85				90						95	
[0119]	Pro	Gly	Ala	Arg	Ile	Phe	Ser	Phe	Asp	Gly	Lys	Asp	Val	Leu	Arg	His
[0120]					100				105						110	
[0121]	Pro	Thr	Trp	Pro	Gln	Lys	Ser	Val	Trp	His	Gly	Ser	Asp	Pro	Asn	Gly
[0122]					115				120						125	
[0123]	Arg	Arg	Leu	Thr	Glu	Ser	Tyr	Cys	Glu	Thr	Trp	Arg	Thr	Glu	Ala	Pro
[0124]					130				135						140	
[0125]	Ser	Ala	Thr	Gly	Gln	Ala	Ser	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Arg	Leu	Leu	Gly
[0126]	145								150				155			160
[0127]	Gln	Ser	Ala	Ala	Ser	Cys	His	His	Ala	Tyr	Ile	Val	Leu	Cys	Ile	Glu
[0128]									165				170			175
[0129]	Asn	Ser	Phe	Met	Thr	Ala	Ser	Lys								
[0130]									180							
[0131]	<210> 5															
[0132]	<211> 183															
[0133]	<212> PRT															
[0134]	<213> 人工序列															
[0135]	<220>															
[0136]	<223> ES变体															
[0137]	<400> 5															
[0138]	Met	His	Ser	His	Arg	Asp	Phe	Gln	Pro	Val	Leu	His	Leu	Val	Ala	Leu
[0139]	1				5					10					15	
[0140]	Asn	Ser	Pro	Leu	Ser	Gly	Gly	Met	Arg	Gly	Ile	Arg	Gly	Ala	Asp	Phe
[0141]					20				25					30		
[0142]	Gln	Cys	Phe	Gln	Gln	Ala	Arg	Ala	Val	Gly	Leu	Ala	Gly	Thr	Phe	Arg
[0143]					35				40					45		
[0144]	Ala	Phe	Leu	Ser	Ser	Arg	Leu	Gln	Asp	Leu	Tyr	Ser	Ile	Val	Arg	Arg
[0145]					50				55				60			
[0146]	Ala	Asp	Arg	Ala	Ala	Val	Pro	Ile	Val	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Leu	Leu
[0147]	65								70				75			80
[0148]	Phe	Pro	Ser	Trp	Glu	Ala	Leu	Phe	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro	Leu	Lys	Pro
[0149]									85				90			95
[0150]	Gly	Ala	Arg	Ile	Phe	Ser	Phe	Asp	Gly	Arg	Asp	Val	Leu	Arg	His	Pro
[0151]									100				105			110
[0152]	Thr	Trp	Pro	Gln	Arg	Ser	Val	Trp	His	Gly	Ser	Asp	Pro	Asn	Gly	Arg
[0153]									115				120			125
[0154]	Arg	Leu	Thr	Glu	Ser	Tyr	Cys	Glu	Thr	Trp	Arg	Thr	Glu	Ala	Pro	Ser
[0155]									130				135			140

[0156]	Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly Gln
[0157]	145 150 155 160
[0158]	Ser Ala Ala Ser Cys His His Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu Asn
[0159]	165 170 175
[0160]	Ser Phe Met Thr Ala Ser Arg
[0161]	180
[0162]	<210> 6
[0163]	<211> 183
[0164]	<212> PRT
[0165]	<213> 人工序列
[0166]	<220>
[0167]	<223> ES变体
[0168]	<400> 6
[0169]	Met His Ser His Gln Asp Phe Gln Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu
[0170]	1 5 10 15
[0171]	Asn Ser Pro Leu Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe
[0172]	20 25 30
[0173]	Gln Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg
[0174]	35 40 45
[0175]	Ala Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg
[0176]	50 55 60
[0177]	Ala Asp Arg Ala Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Leu Leu
[0178]	65 70 75 80
[0179]	Phe Pro Ser Trp Glu Ala Leu Phe Ser Ser Glu Gly Pro Leu Gln Pro
[0180]	85 90 95
[0181]	Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Lys Asp Val Leu Arg His Pro
[0182]	100 105 110
[0183]	Thr Trp Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Asn Gly Arg
[0184]	115 120 125
[0185]	Arg Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Glu Ala Pro Ser
[0186]	130 135 140
[0187]	Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly Gln
[0188]	145 150 155 160
[0189]	Ser Ala Ala Ser Cys His His Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu Asn
[0190]	165 170 175
[0191]	Ser Phe Met Thr Ala Ser Lys
[0192]	180
[0193]	<210> 7
[0194]	<211> 181

[0195]	<212>	PRT
[0196]	<213>	人工序列
[0197]	<220>	
[0198]	<223>	ES变体
[0199]	<400>	7
[0200]	Met Asp Phe Gln Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu Asn Ser Pro Leu	
[0201]	1 5 10 15	
[0202]	Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe Gln Cys Phe Gln	
[0203]	20 25 30	
[0204]	Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg Ala Phe Leu Ser	
[0205]	35 40 45	
[0206]	Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg Ala Asp Arg Ala	
[0207]	50 55 60	
[0208]	Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Leu Leu Phe Pro Ser Trp	
[0209]	65 70 75 80	
[0210]	Glu Ala Leu Phe Ser Gly Glu Ser Gly Ala Gly Lys Thr Pro Gly Ala	
[0211]	85 90 95	
[0212]	Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Lys Asp Val Leu Arg His Pro Thr Trp	
[0213]	100 105 110	
[0214]	Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Asn Gly Arg Arg Leu	
[0215]	115 120 125	
[0216]	Thr Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Glu Ala Pro Ser Ala Thr	
[0217]	130 135 140	
[0218]	Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly Gln Ser Ala	
[0219]	145 150 155 160	
[0220]	Ala Ser Cys His His Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu Asn Ser Phe	
[0221]	165 170 175	
[0222]	Met Thr Ala Ser Lys	
[0223]	180	
[0224]	<210>	8
[0225]	<211>	180
[0226]	<212>	PRT
[0227]	<213>	人工序列
[0228]	<220>	
[0229]	<223>	ES变体
[0230]	<400>	8
[0231]	Met Arg Asp Phe Gln Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu Asn Ser Pro	
[0232]	1 5 10 15	
[0233]	Leu Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe Gln Cys Phe	

[0234]	20							25							30													
[0235]	Gln	Gln	Ala	Arg	Gln	Val	Gly	Leu	Ala	Gly	Thr	Phe	Arg	Ala	Phe	Leu												
[0236]	35							40							45													
[0237]	Ser	Ser	Arg	Leu	Gln	Asp	Leu	Tyr	Ser	Ile	Val	Arg	Arg	Ala	Asp	Arg												
[0238]	50							55							60													
[0239]	Ala	Ala	Val	Pro	Ile	Val	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Leu	Leu	Phe	Pro	Ser												
[0240]	65							70							75							80						
[0241]	Trp	Glu	Ala	Leu	Phe	Ser	Ser	Glu	Gly	Pro	Leu	Lys	Pro	Gly	Ala	Arg												
[0242]	85							90							95													
[0243]	Ile	Phe	Ser	Phe	Asp	Gly	Lys	Asp	Val	Leu	Arg	His	Pro	Thr	Trp	Pro												
[0244]	100							105							110													
[0245]	Gln	Lys	Ser	Val	Trp	His	Gly	Ser	Asp	Pro	Asn	Gly	Arg	Arg	Leu	Thr												
[0246]	115							120							125													
[0247]	Glu	Ser	Tyr	Cys	Glu	Thr	Trp	Arg	Thr	Glu	Ala	Pro	Ser	Ala	Thr	Gly												
[0248]	130							135							140													
[0249]	Gln	Ala	Ser	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Arg	Leu	Leu	Gly	Gln	Ser	Ala	Ala												
[0250]	145							150							155							160						
[0251]	Ser	Cys	His	His	Ala	Tyr	Ile	Val	Leu	Cys	Ile	Glu	Asn	Ser	Phe	Met												
[0252]	165							170							175													
[0253]	Thr	Ala	Ser	Lys																								
[0254]	180																											
[0255]	<210> 9																											
[0256]	<211> 181																											
[0257]	<212> PRT																											
[0258]	<213> 人工序列																											
[0259]	<220>																											
[0260]	<223> ES变体																											
[0261]	<400> 9																											
[0262]	Met	Arg	Asp	Phe	Gln	Pro	Val	Leu	His	Leu	Val	Ala	Leu	Asn	Ser	Pro												
[0263]	1							5							10							15						
[0264]	Leu	Ser	Gly	Gly	Met	Arg	Gly	Ile	Arg	Gly	Ala	Asp	Phe	Gln	Cys	Phe												
[0265]	20							25							30													
[0266]	Gln	Gln	Ala	Arg	Ala	Val	Gly	Leu	Ala	Gly	Thr	Phe	Arg	Ala	Phe	Leu												
[0267]	35							40							45													
[0268]	Ser	Ser	Arg	Leu	Gln	Asp	Leu	Tyr	Ser	Ile	Val	Arg	Arg	Ala	Asp	Arg												
[0269]	50							55							60													
[0270]	Gly	Ser	Val	Pro	Ile	Val	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Val	Leu	Ser	Pro	Ser												
[0271]	65							70							75							80						
[0272]	Trp	Asp	Ser	Leu	Phe	Ser	Gly	Ser	Gln	Gly	Gln	Leu	Gln	Pro	Gly	Ala												

[0273]		85		90		95
[0274]	Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Arg Asp Ile Leu Gln Asp Ser Ala Trp					
[0275]		100		105		110
[0276]	Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Ala Lys Gly Arg Arg Leu					
[0277]		115		120		125
[0278]	Pro Glu Ser Tyr Cys Glu Ala Trp Arg Thr Asp Glu Arg Gly Thr Ser					
[0279]		130		135		140
[0280]	Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Ser Gly Arg Leu Leu Glu Gln Lys Ala					
[0281]	145		150		155	160
[0282]	Ala Ser Cys His Asn Ser Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu Asn Ser Phe					
[0283]		165		170		175
[0284]	Met Thr Ala Ser Lys					
[0285]		180				
[0286]	<210> 10					
[0287]	<211> 185					
[0288]	<212> PRT					
[0289]	<213> 人工序列					
[0290]	<220>					
[0291]	<223> ES变体					
[0292]	<400> 10					
[0293]	Met His Val His Gln Asp Phe Gln Pro Ala Leu His Leu Val Ala Leu					
[0294]	1	5		10		15
[0295]	Asn Thr Pro Leu Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe					
[0296]		20		25		30
[0297]	Gln Cys Phe Gln Gln Ala Arg Gln Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg					
[0298]		35		40		45
[0299]	Ala Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg					
[0300]	50		55		60	
[0301]	Ala Asp Arg Thr Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Arg Asp Glu Val Leu					
[0302]	65		70		75	80
[0303]	Phe Ser Asn Trp Glu Ala Leu Phe Thr Gly Ser Glu Ala Pro Leu Arg					
[0304]		85		90		95
[0305]	Ala Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Arg Asp Val Leu Arg His					
[0306]		100		105		110
[0307]	Pro Thr Trp Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Asn Gly					
[0308]		115		120		125
[0309]	Arg Arg Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Glu Ala Pro					
[0310]	130		135		140	
[0311]	Ser Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Ala Gly Arg Leu Leu Glu					

[0312]	145	150	155	160
[0313]	Gln Lys Ala Ala Gly Cys His Asn Ala Phe Ile Val Leu Cys Ile Glu			
[0314]	165	170	175	
[0315]	Asn Ser Phe Met Thr Ser Ser Ser Lys			
[0316]	180	185		
[0317]	<210> 11			
[0318]	<211> 186			
[0319]	<212> PRT			
[0320]	<213> 人工序列			
[0321]	<220>			
[0322]	<223> ES变体			
[0323]	<400> 11			
[0324]	Met His Thr His Gln Asp Phe His Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu			
[0325]	1	5	10	15
[0326]	Asn Thr Pro Leu Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe			
[0327]	20	25	30	
[0328]	Gln Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ser Gly Thr Phe Arg			
[0329]	35	40	45	
[0330]	Ala Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg			
[0331]	50	55	60	
[0332]	Ala Asp Arg Ala Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Leu Leu			
[0333]	65	70	75	80
[0334]	Phe Pro Ser Trp Glu Ala Leu Phe Ser Gly Glu Ser Gly Ala Gly Lys			
[0335]	85	90	95	
[0336]	Thr Gly Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Arg Asp Val Leu Arg			
[0337]	100	105	110	
[0338]	His Pro Ala Trp Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Ser			
[0339]	115	120	125	
[0340]	Gly Arg Arg Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Asp Ser			
[0341]	130	135	140	
[0342]	Arg Ala Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Ala Gly Arg Leu Leu			
[0343]	145	150	155	160
[0344]	Glu Gln Lys Ala Ala Gly Cys His Asn Ala Phe Ile Val Leu Cys Ile			
[0345]	165	170	175	
[0346]	Glu Asn Ser Phe Met Thr Ser Ser Ser Lys			
[0347]	180	185		
[0348]	<210> 12			
[0349]	<211> 184			
[0350]	<212> PRT			

[0351]	<213> 人工序列															
[0352]	<220>															
[0353]	<223> ES变体															
[0354]	<400> 12															
[0355]	Met	His	Ser	His	Arg	Asp	Phe	Gln	Pro	Val	Leu	His	Leu	Val	Ala	Leu
[0356]	1				5					10					15	
[0357]	Asn	Ser	Pro	Leu	Ser	Gly	Gly	Met	Arg	Gly	Ile	Arg	Gly	Ala	Asp	Phe
[0358]					20				25					30		
[0359]	Gln	Cys	Phe	Gln	Gln	Ala	Arg	Ala	Val	Gly	Leu	Ala	Gly	Thr	Phe	Arg
[0360]					35				40					45		
[0361]	Ala	Phe	Leu	Ser	Ser	Arg	Leu	Gln	Asp	Leu	Tyr	Ser	Ile	Val	Arg	Arg
[0362]					50				55				60			
[0363]	Ala	Asp	Arg	Ala	Ala	Val	Pro	Ile	Val	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Leu	Leu
[0364]	65						70				75				80	
[0365]	Phe	Pro	Ser	Trp	Glu	Ala	Leu	Phe	Ser	Gly	Ser	Glu	Gly	Pro	Leu	Lys
[0366]					85					90					95	
[0367]	Pro	Gly	Ala	Arg	Ile	Phe	Ser	Phe	Asp	Gly	Arg	Asp	Val	Leu	Arg	His
[0368]					100					105				110		
[0369]	Pro	Thr	Trp	Pro	Gln	Lys	Ser	Val	Trp	His	Gly	Ser	Asp	Pro	Ser	Gly
[0370]					115				120					125		
[0371]	His	Arg	Leu	Thr	Glu	Ser	Tyr	Cys	Glu	Thr	Trp	Arg	Thr	Asp	Ser	Arg
[0372]					130				135				140			
[0373]	Ala	Ala	Thr	Gly	Gln	Ala	Ser	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Arg	Leu	Leu	Gly
[0374]	145					150				155					160	
[0375]	Gln	Ser	Ala	Ala	Ser	Cys	His	His	Ala	Tyr	Ile	Val	Leu	Cys	Ile	Ala
[0376]					165					170					175	
[0377]	Asn	Ser	Phe	Met	Thr	Ala	Ser	Lys								
[0378]					180											
[0379]	<210> 13															
[0380]	<211> 180															
[0381]	<212> PRT															
[0382]	<213> 人工序列															
[0383]	<220>															
[0384]	<223> ES变体															
[0385]	<400> 13															
[0386]	Met	Asp	Phe	Gln	Pro	Val	Leu	His	Leu	Val	Ala	Leu	Asn	Ser	Pro	Leu
[0387]	1				5					10					15	
[0388]	Ser	Gly	Gly	Met	Arg	Gly	Ile	Arg	Gly	Ala	Asp	Phe	Gln	Cys	Phe	Gln
[0389]					20					25				30		

[0390]	Gln	Ala	Arg	Ala	Val	Gly	Leu	Ala	Gly	Thr	Phe	Arg	Ala	Phe	Leu	Ser
[0391]			35					40						45		
[0392]	Ser	Arg	Leu	Gln	Asp	Leu	Tyr	Ser	Ile	Val	Arg	Arg	Ala	Asp	Arg	Ala
[0393]			50					55						60		
[0394]	Ala	Val	Pro	Ile	Val	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Leu	Leu	Phe	Pro	Ser	Trp
[0395]	65					70					75					80
[0396]	Glu	Ala	Leu	Phe	Ser	Gly	Ser	Glu	Gly	Pro	Leu	Arg	Pro	Gly	Ala	Arg
[0397]					85					90						95
[0398]	Ile	Phe	Ser	Phe	Asp	Gly	Lys	Asp	Val	Leu	Arg	His	Pro	Thr	Leu	Pro
[0399]					100					105						110
[0400]	Gln	Lys	Ser	Val	Trp	His	Gly	Ser	Asp	Pro	Ser	Gly	Arg	Arg	Leu	Thr
[0401]					115					120						125
[0402]	Glu	Ser	Tyr	Cys	Glu	Thr	Trp	Arg	Thr	Asp	Ser	Arg	Ala	Ala	Thr	Gly
[0403]					130					135						140
[0404]	Gln	Ala	Ser	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Arg	Leu	Leu	Gly	Gln	Ser	Ala	Ala
[0405]	145						150					155				160
[0406]	Ser	Cys	His	His	Ala	Tyr	Ile	Val	Leu	Cys	Ile	Glu	Asn	Ser	Phe	Met
[0407]					165						170					175
[0408]	Thr	Ala	Ser	Lys												
[0409]					180											
[0410]	<210>	14														
[0411]	<211>	181														
[0412]	<212>	PRT														
[0413]	<213>	人工序列														
[0414]	<220>															
[0415]	<223>	ES变体														
[0416]	<400>	14														
[0417]	Met	Asp	Phe	Gln	Pro	Val	Leu	His	Leu	Val	Ala	Leu	Asn	Ser	Pro	Leu
[0418]	1				5					10					15	
[0419]	Ser	Gly	Gly	Met	Arg	Gly	Ile	Arg	Gly	Ala	Asp	Phe	Gln	Cys	Phe	Gln
[0420]					20					25					30	
[0421]	Gln	Ala	Arg	Ala	Val	Gly	Leu	Ala	Gly	Thr	Phe	Arg	Ala	Phe	Leu	Ser
[0422]					35					40					45	
[0423]	Ser	Arg	Leu	Gln	Asp	Leu	Tyr	Ser	Ile	Val	Arg	Arg	Ala	Asp	Arg	Ala
[0424]					50					55					60	
[0425]	Ala	Val	Pro	Ile	Val	Asn	Leu	Lys	Asp	Glu	Leu	Leu	Phe	Pro	Ser	Trp
[0426]	65					70					75					80
[0427]	Glu	Ala	Leu	Phe	Ser	Gly	Ser	Glu	Gly	Pro	Leu	Arg	Pro	Gly	Ala	Arg
[0428]					85					90						95

[0429]	Ile Phe Ser Phe Asp Gly Lys Asp Val Leu Arg His Pro Thr Leu Pro
[0430]	100 105 110
[0431]	Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Ser Gly Arg Arg Leu Thr
[0432]	115 120 125
[0433]	Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Asp Ser Arg Ala Ala Thr Gly
[0434]	130 135 140
[0435]	Gln Ala Ser Ser Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly Gln Ser Ala Ala
[0436]	145 150 155 160
[0437]	Ser Cys His His Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu Asn Ser Phe Met
[0438]	165 170 175
[0439]	Thr Ala Ser Lys Lys
[0440]	180
[0441]	<210> 15
[0442]	<211> 185
[0443]	<212> PRT
[0444]	<213> 人工序列
[0445]	<220>
[0446]	<223> ES变体
[0447]	<400> 15
[0448]	Met His Thr His Gln Asp Phe His Pro Val Leu His Leu Val Ala Leu
[0449]	1 5 10 15
[0450]	Asn Thr Pro Leu Ser Gly Gly Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe
[0451]	20 25 30
[0452]	Gln Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg
[0453]	35 40 45
[0454]	Ala Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg
[0455]	50 55 60
[0456]	Ala Asp Arg Ala Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Leu Leu
[0457]	65 70 75 80
[0458]	Phe Pro Ser Trp Glu Ala Leu Phe Ser Gly Ser Glu Gly Pro Leu Lys
[0459]	85 90 95
[0460]	Pro Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Arg Asp Ile Leu Gln Asp
[0461]	100 105 110
[0462]	Ser Ala Trp Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Asn Gly
[0463]	115 120 125
[0464]	Arg Arg Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Glu Ala Pro
[0465]	130 135 140
[0466]	Ser Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Ser Ser Gly Lys Leu Leu Glu
[0467]	145 150 155 160

[0468]	Gln Ser Val Ser Ser Cys Gln His Ala Phe Val Val Leu Cys Ile Glu
[0469]	165 170 175
[0470]	Asn Ser Phe Met Thr Ala Ala Lys Lys
[0471]	180 185
[0472]	<210> 16
[0473]	<211> 183
[0474]	<212> PRT
[0475]	<213> 人工序列
[0476]	<220>
[0477]	<223> ES变体
[0478]	<400> 16
[0479]	Met His Thr His Thr Ser Gly Pro Gly Leu His Leu Ile Ala Leu Asn
[0480]	1 5 10 15
[0481]	Ser Pro Gln Val Gly Asn Met Arg Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe Gln
[0482]	20 25 30
[0483]	Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ala Gly Thr Phe Arg Ala
[0484]	35 40 45
[0485]	Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg Ala
[0486]	50 55 60
[0487]	Asp Arg Ser Ser Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Val Leu Ser
[0488]	65 70 75 80
[0489]	Pro Ser Trp Asp Ser Leu Phe Ser Val Ser Gln Gly Gln Leu Gln Pro
[0490]	85 90 95
[0491]	Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Arg Asp Ile Leu Gln Asp Ser
[0492]	100 105 110
[0493]	Ala Trp Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Asn Gly Arg
[0494]	115 120 125
[0495]	Arg Leu Thr Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Glu Ala Pro Ser
[0496]	130 135 140
[0497]	Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly Gln
[0498]	145 150 155 160
[0499]	Ser Ala Ala Ser Cys His His Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu Asn
[0500]	165 170 175
[0501]	Ser Phe Met Thr Ala Ser Lys
[0502]	180
[0503]	<210> 17
[0504]	<211> 184
[0505]	<212> PRT
[0506]	<213> 人工序列

[0507]	<220>
[0508]	<223> ES变体
[0509]	<400> 17
[0510]	Met Thr Pro Thr Trp Tyr Pro Arg Met Leu Arg Val Ala Ala Leu Asn
[0511]	1 5 10 15
[0512]	Glu Pro Ser Thr Gly Asp Leu Gln Gly Ile Arg Gly Ala Asp Phe Gln
[0513]	20 25 30
[0514]	Cys Phe Gln Gln Ala Arg Ala Val Gly Leu Ser Gly Thr Phe Arg Ala
[0515]	35 40 45
[0516]	Phe Leu Ser Ser Arg Leu Gln Asp Leu Tyr Ser Ile Val Arg Arg Ala
[0517]	50 55 60
[0518]	Asp Arg Ala Ala Val Pro Ile Val Asn Leu Lys Asp Glu Val Leu Ser
[0519]	65 70 75 80
[0520]	Pro Ser Trp Asp Ser Leu Phe Ser Gly Ser Gln Gly Gln Leu Gln Pro
[0521]	85 90 95
[0522]	Gly Ala Arg Ile Phe Ser Phe Asp Gly Lys Asp Val Leu Arg His Pro
[0523]	100 105 110
[0524]	Thr Trp Pro Gln Lys Ser Val Trp His Gly Ser Asp Pro Ser Gly Arg
[0525]	115 120 125
[0526]	Arg Leu Met Glu Ser Tyr Cys Glu Thr Trp Arg Thr Glu Thr Thr Gly
[0527]	130 135 140
[0528]	Ala Thr Gly Gln Ala Ser Ser Leu Leu Gly Gly Arg Leu Leu Gly Gln
[0529]	145 150 155 160
[0530]	Ser Ala Ala Ser Cys His His Ala Tyr Ile Val Leu Cys Ile Glu Asn
[0531]	165 170 175
[0532]	Ser Phe Met Thr Asn Asn Arg Lys
[0533]	180
[0534]	<210> 18
[0535]	<211> 23
[0536]	<212> DNA
[0537]	<213> 人工序列
[0538]	<220>
[0539]	<223> PPAR γ 1 正向引物 (5'-3')
[0540]	<400> 18
[0541]	acaagatttg aaagaagcgg tga 23
[0542]	<210> 19
[0543]	<211> 26
[0544]	<212> DNA
[0545]	<213> 人工序列

[0546] <220>
[0547] <223> PPAR γ 1 反向引物 (5'-3')
[0548] <400> 19
[0549] gcttgatgtc aaaggaatgc gaagga 26
[0550] <210> 20
[0551] <211> 21
[0552] <212> DNA
[0553] <213> 人工序列
[0554] <220>
[0555] <223> PPAR γ 2 正向引物 (5'-3')
[0556] <400> 20
[0557] cgctgatgca ctgcctatga g 21
[0558] <210> 21
[0559] <211> 23
[0560] <212> DNA
[0561] <213> 人工序列
[0562] <220>
[0563] <223> PPAR γ 2 反向引物 (5'-3')
[0564] <400> 21
[0565] tgggtcagct cttgtgaatg gaa 23
[0566] <210> 22
[0567] <211> 20
[0568] <212> DNA
[0569] <213> 人工序列
[0570] <220>
[0571] <223> GAPDH 正向引物 (5'-3')
[0572] <400> 22
[0573] ccagcctcgt cccgtagaca 20
[0574] <210> 23
[0575] <211> 22
[0576] <212> DNA
[0577] <213> 人工序列
[0578] <220>
[0579] <223> GAPDH 反向引物 (5'-3')
[0580] <400> 23
[0581] tgaatttgcc gtgagtggag tc 22

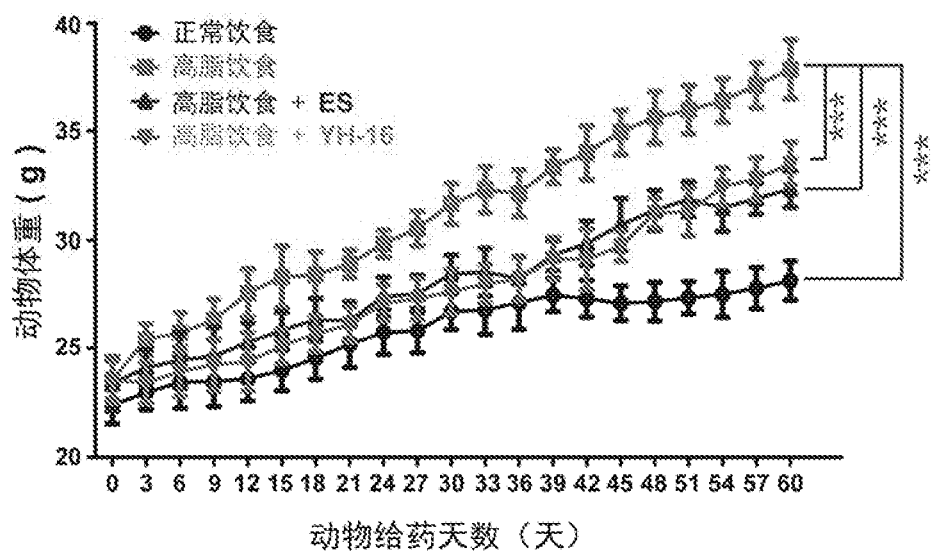


图1A

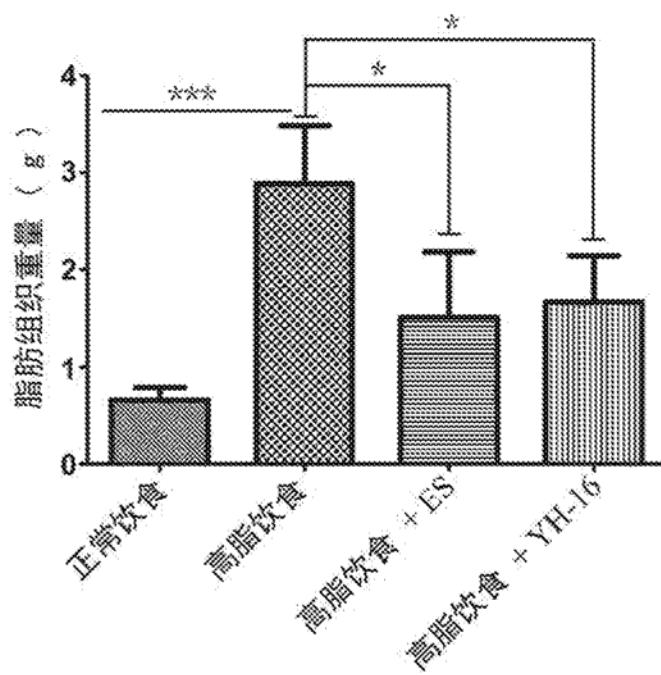


图1B

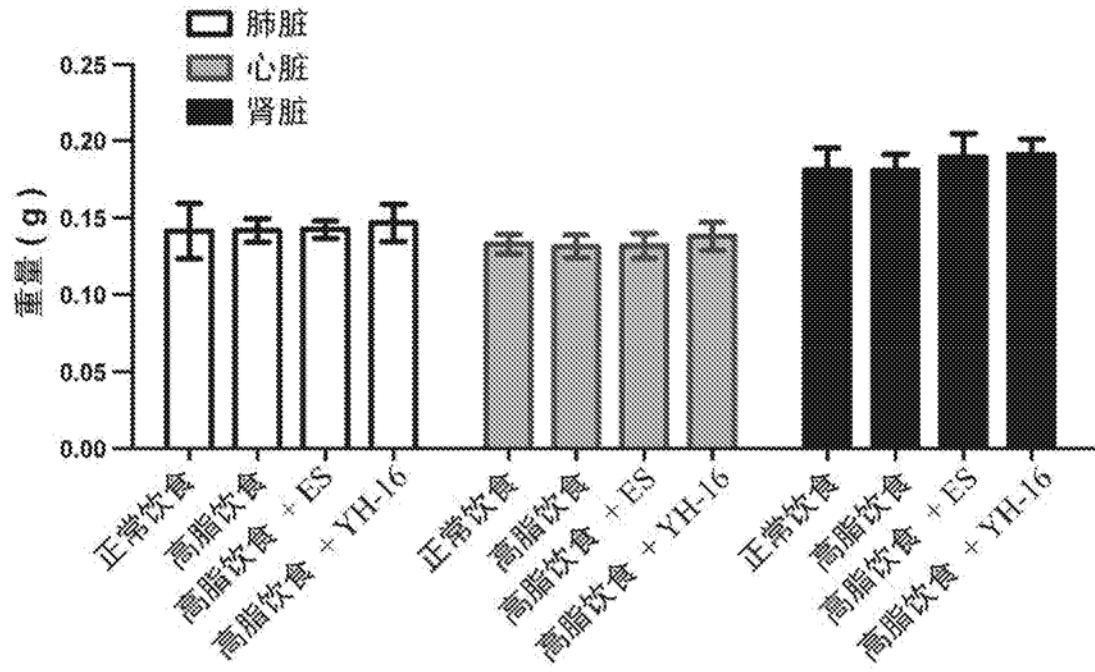


图1C

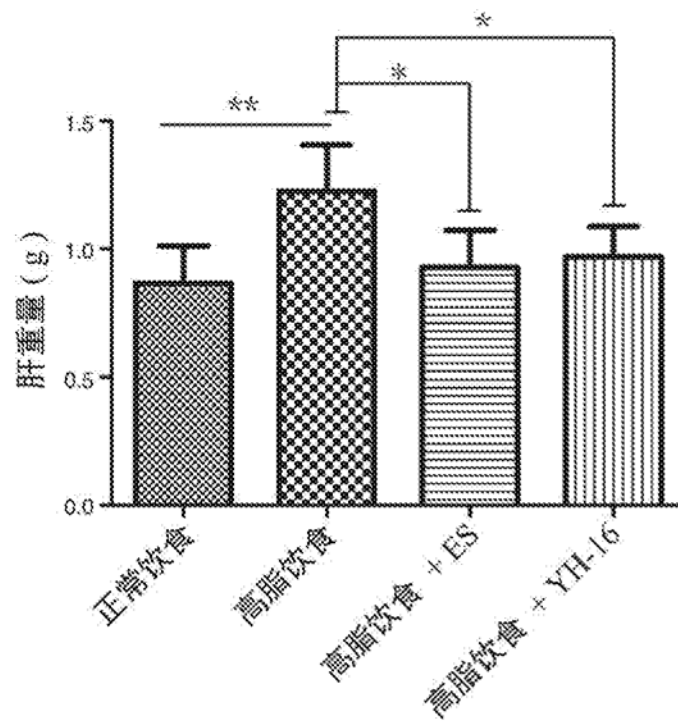


图2A

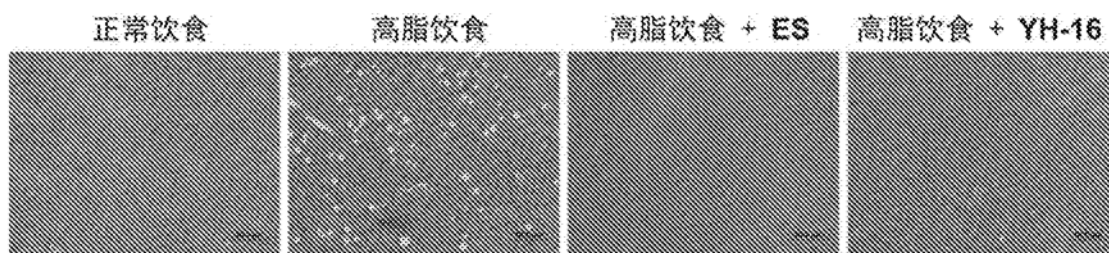


图2B

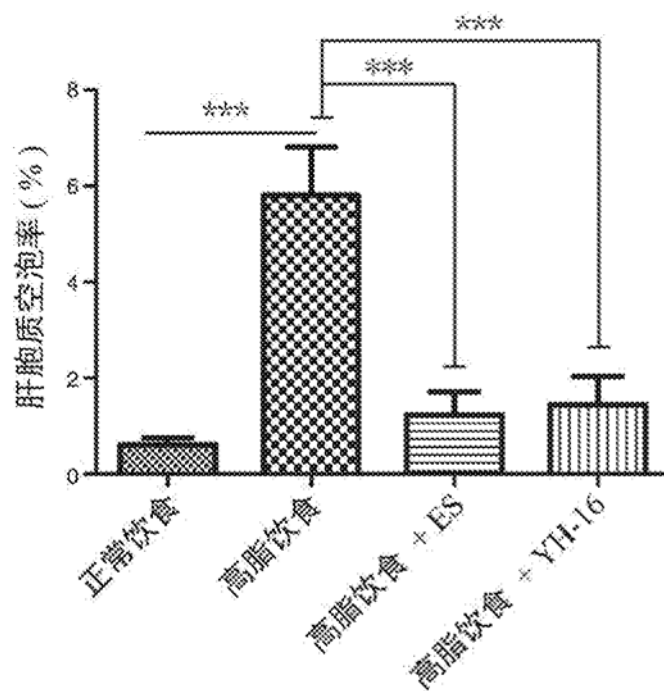


图2C

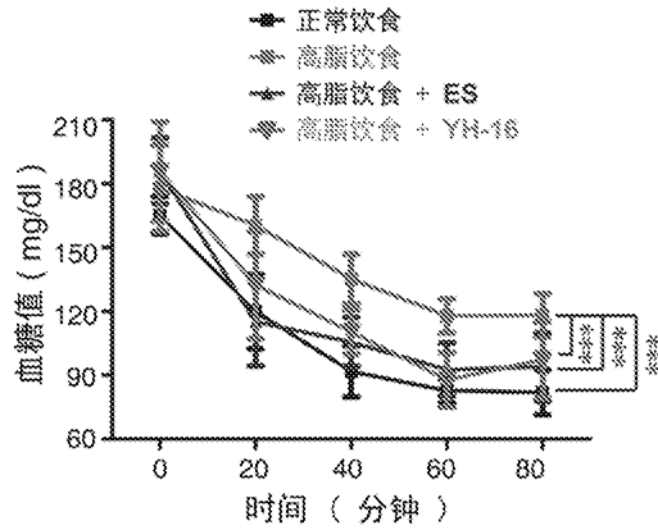


图3A

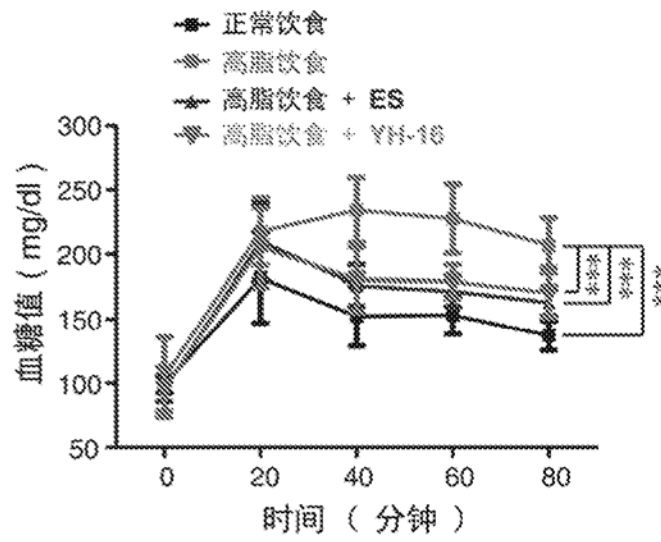


图3B

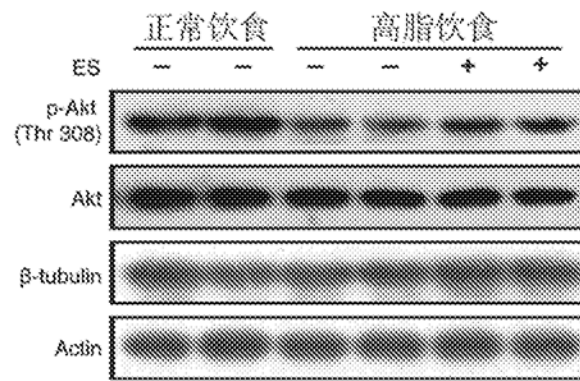


图3C

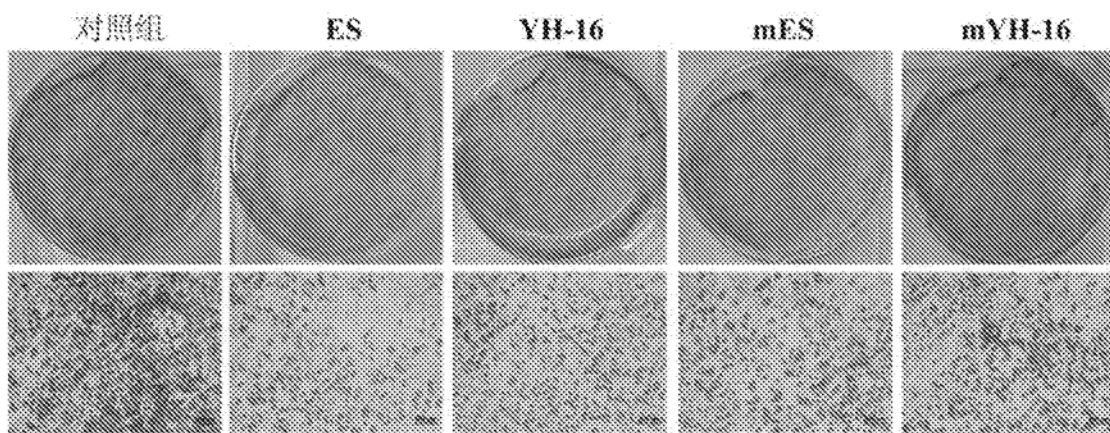


图4A

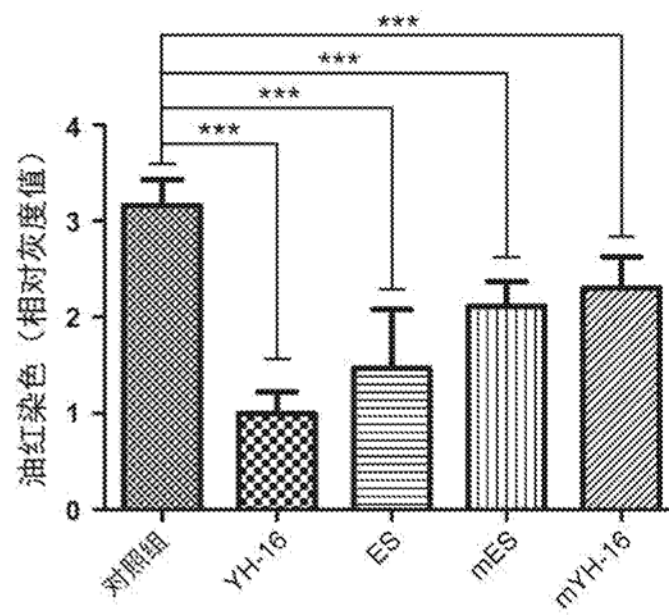


图4B

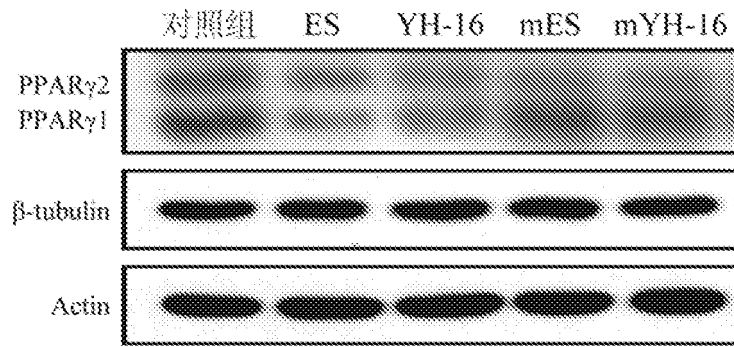


图4C

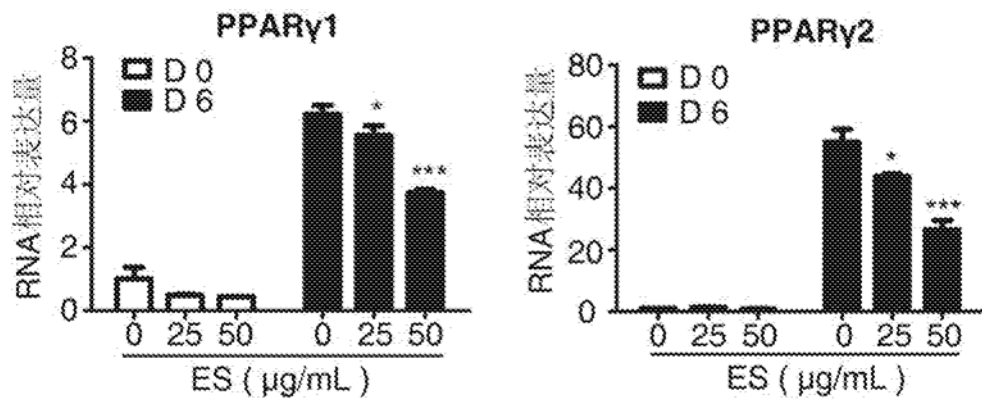


图4D

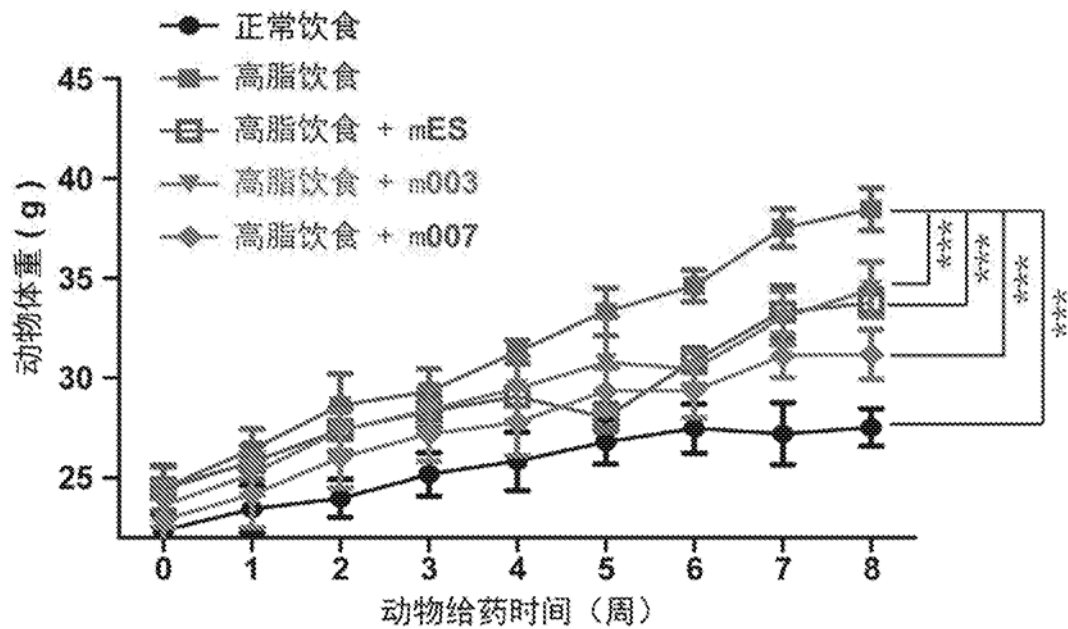


图5A

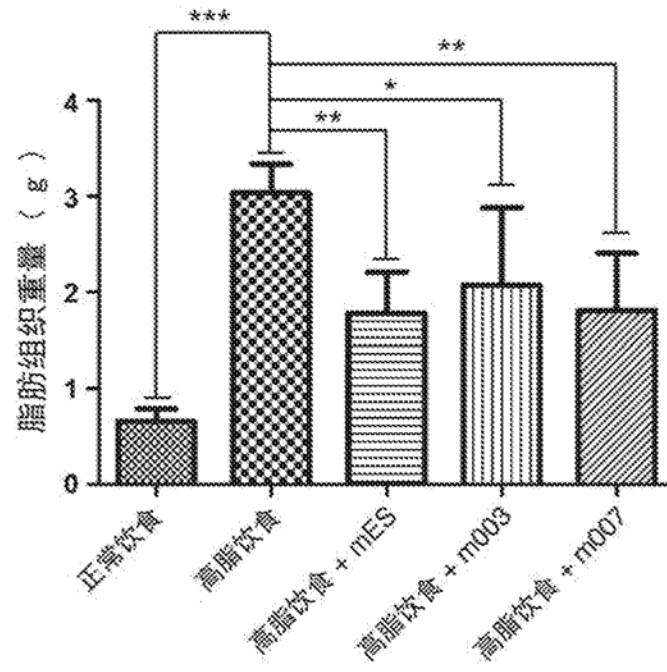


图5B

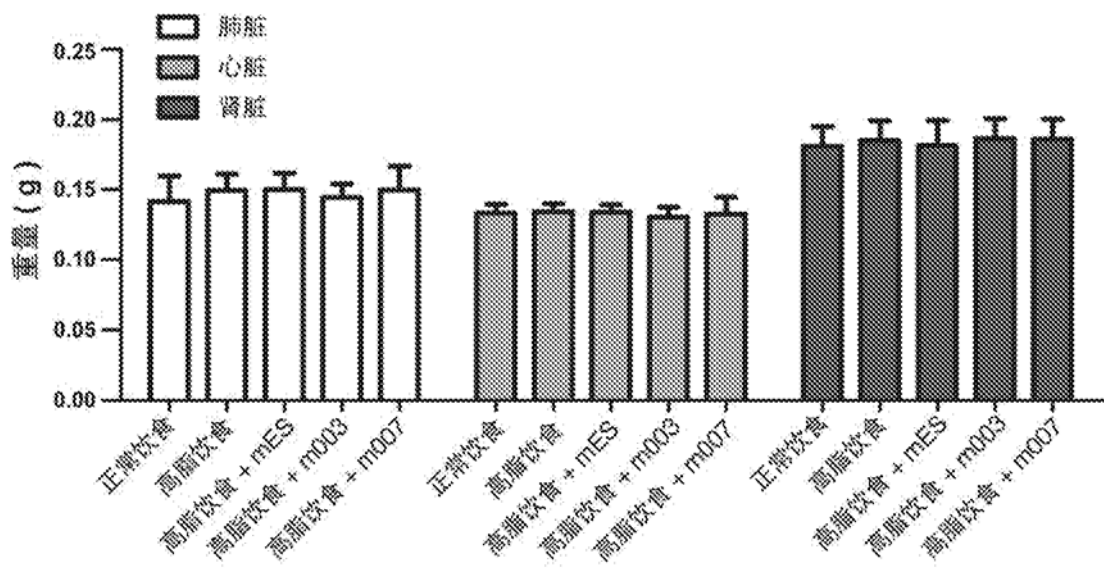


图5C

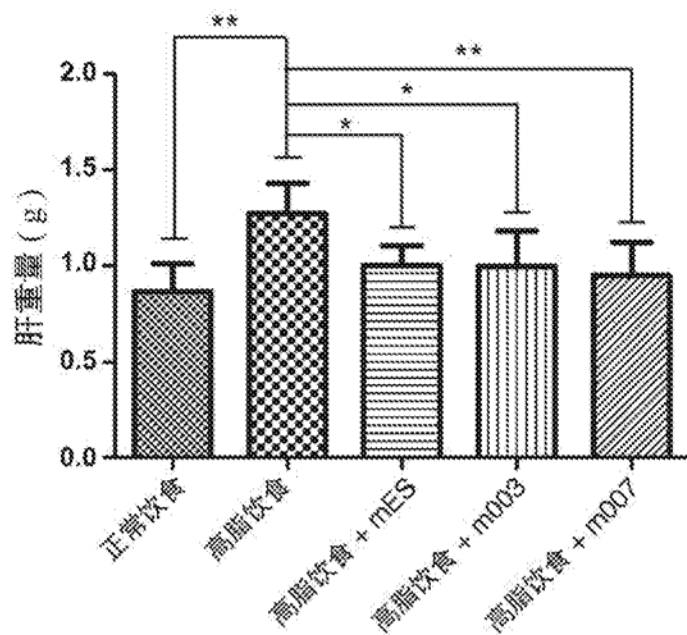


图6A

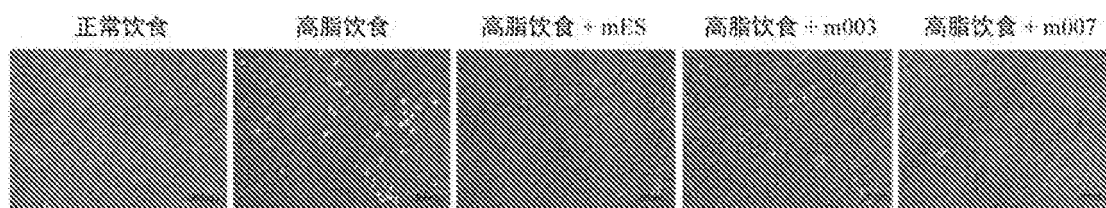


图6B

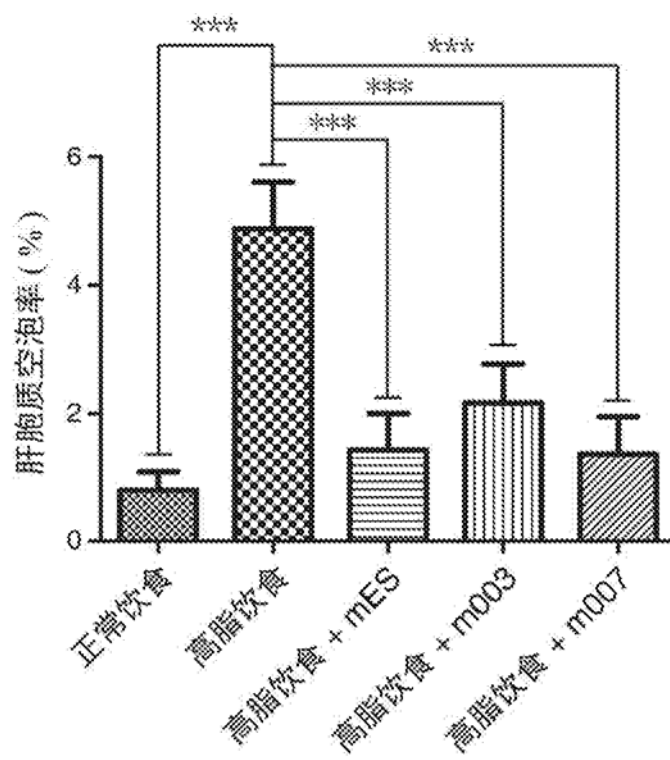


图6C

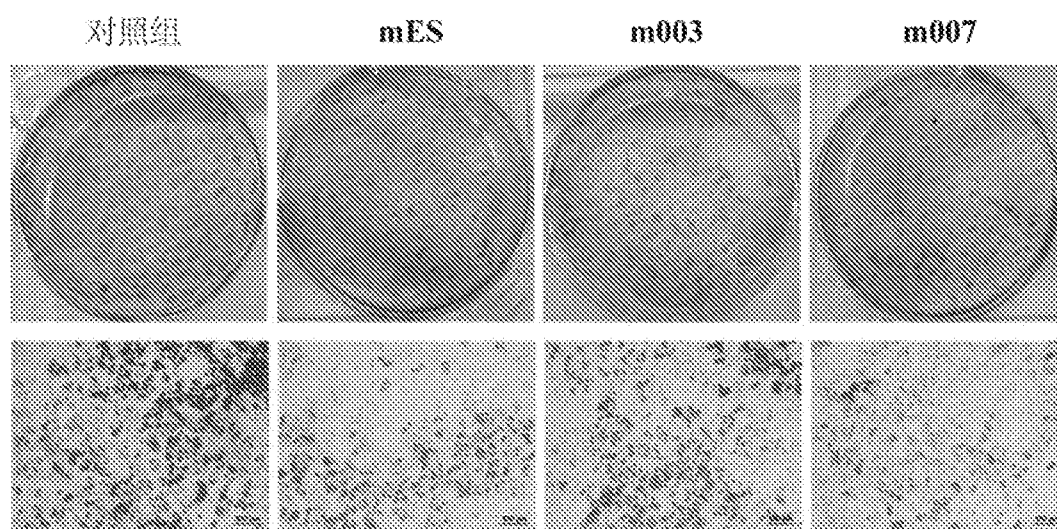


图7A

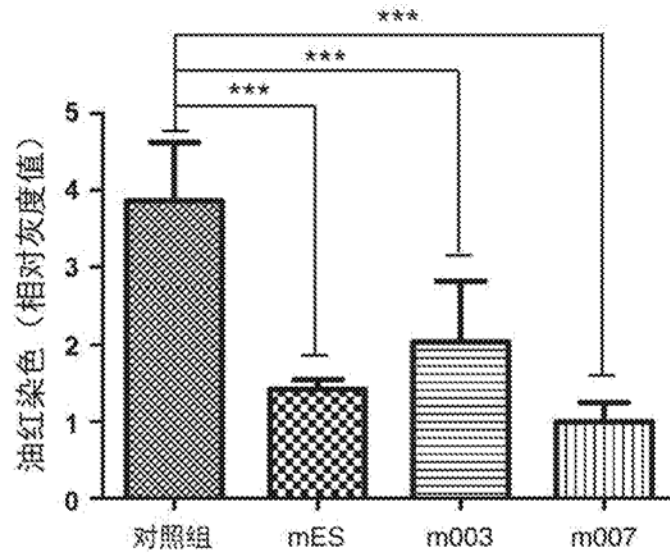


图7B

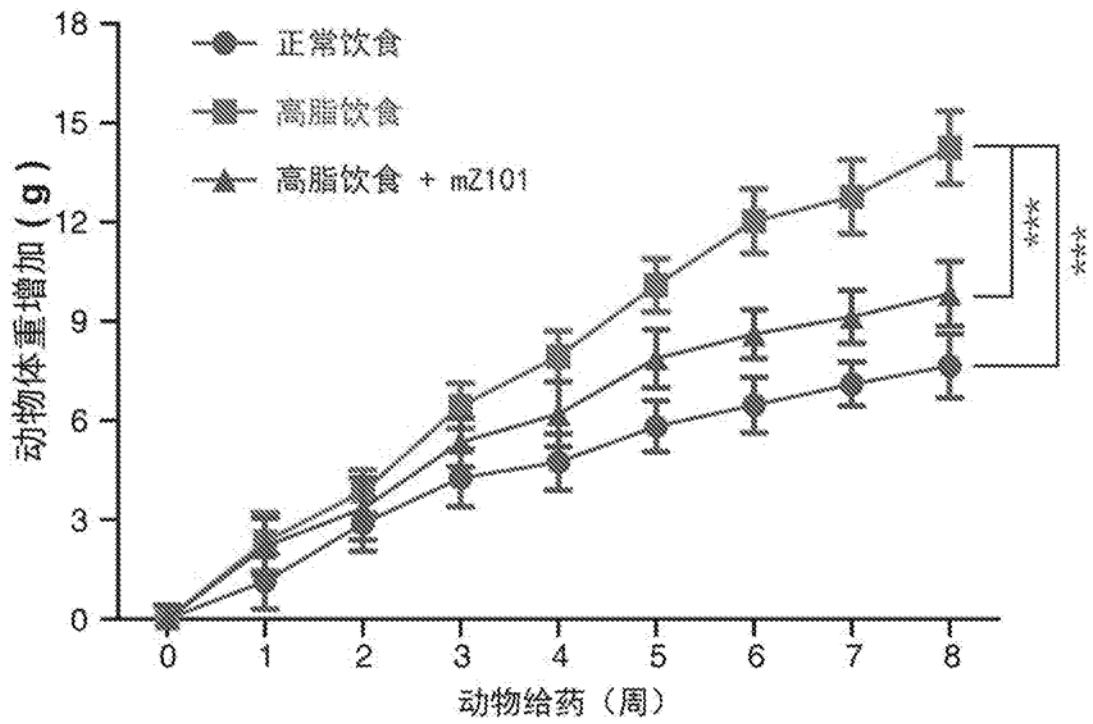


图8A

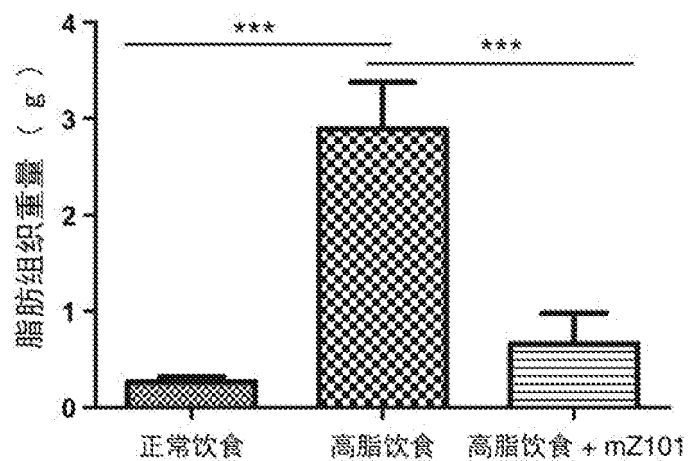


图8B

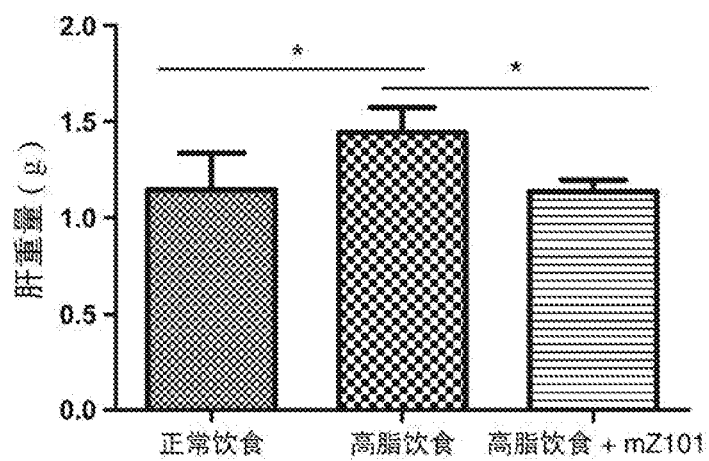


图8C

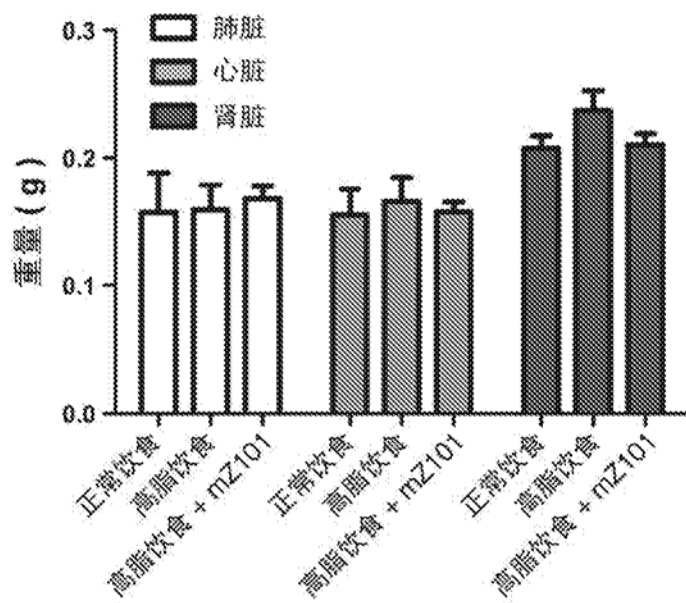


图8D

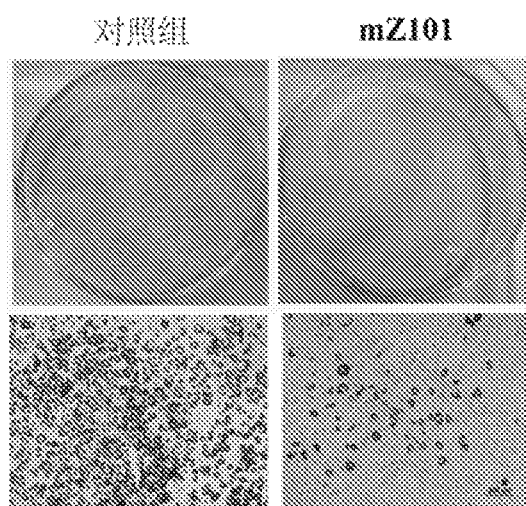


图9A

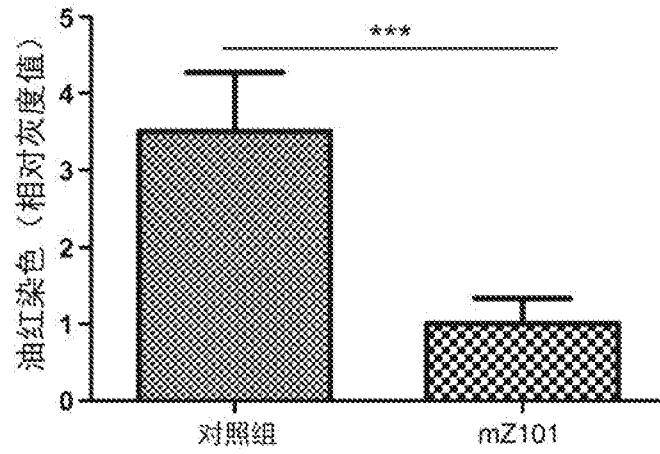


图9B

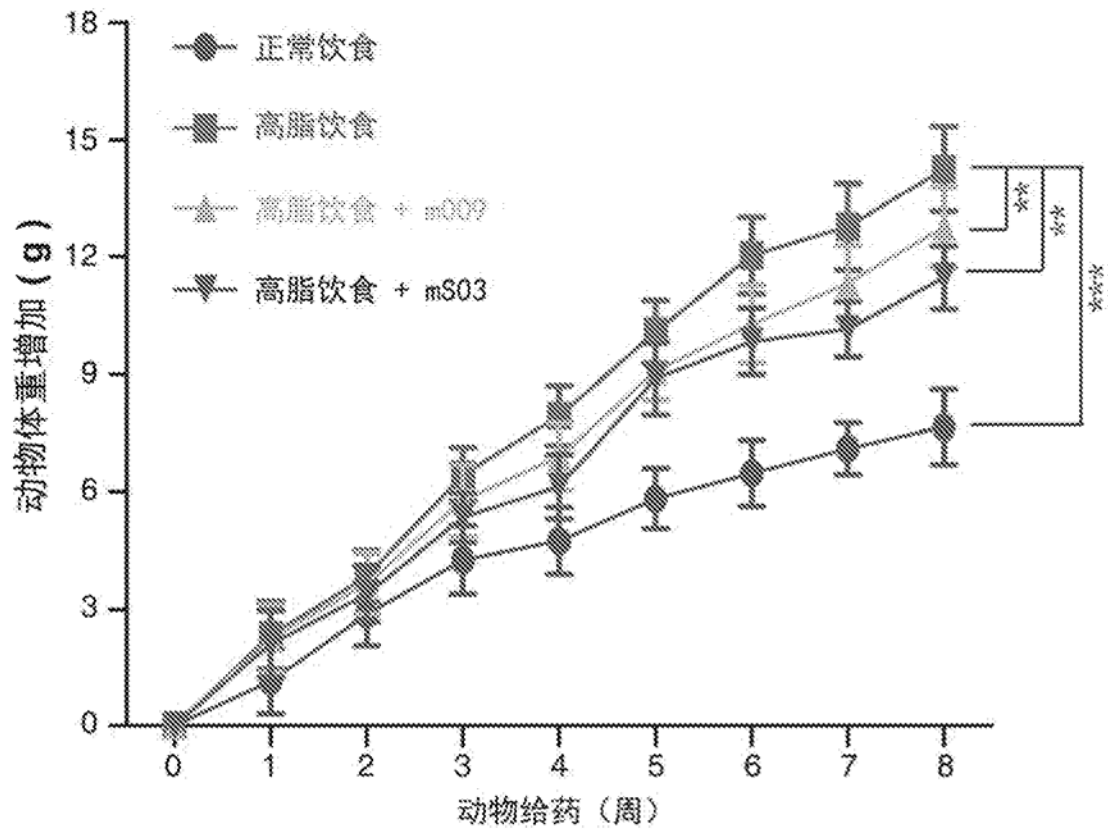


图10A

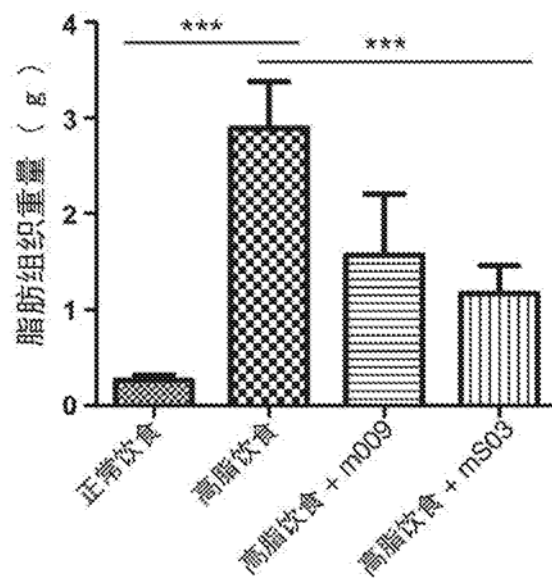


图10B

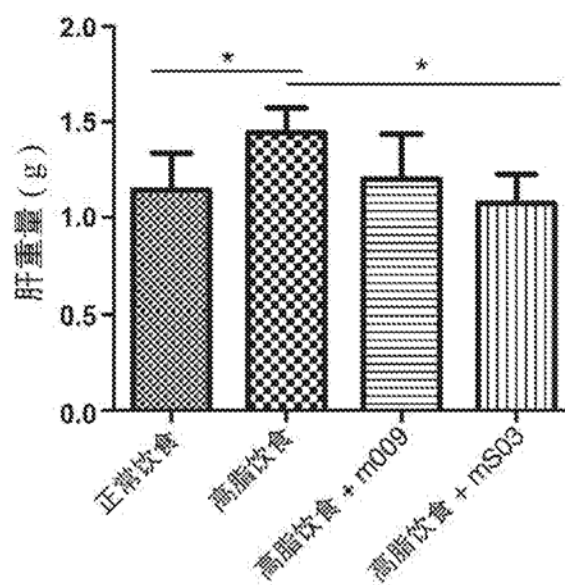


图10C

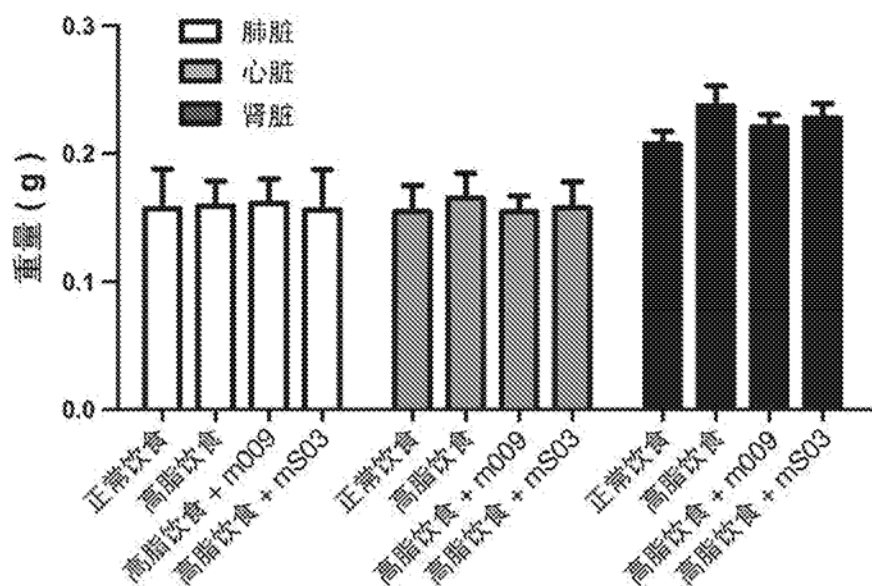


图10D

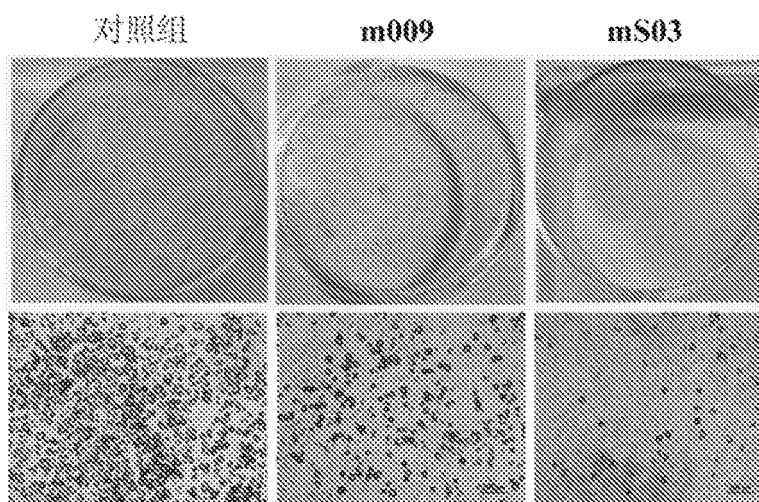


图11A

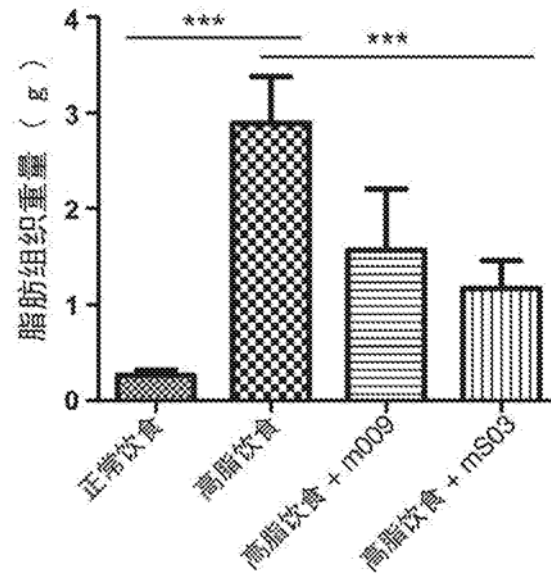


图11B

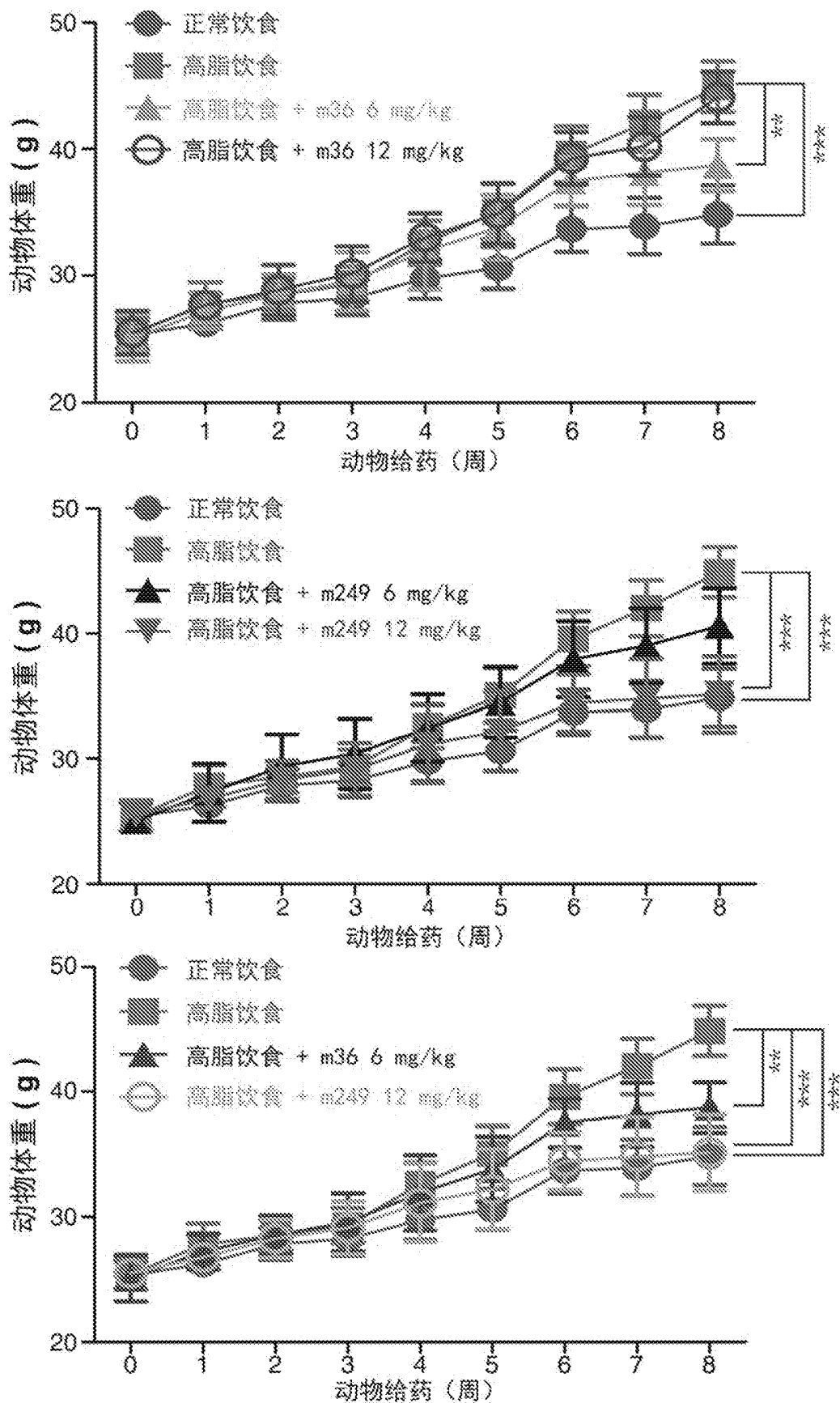


图12A

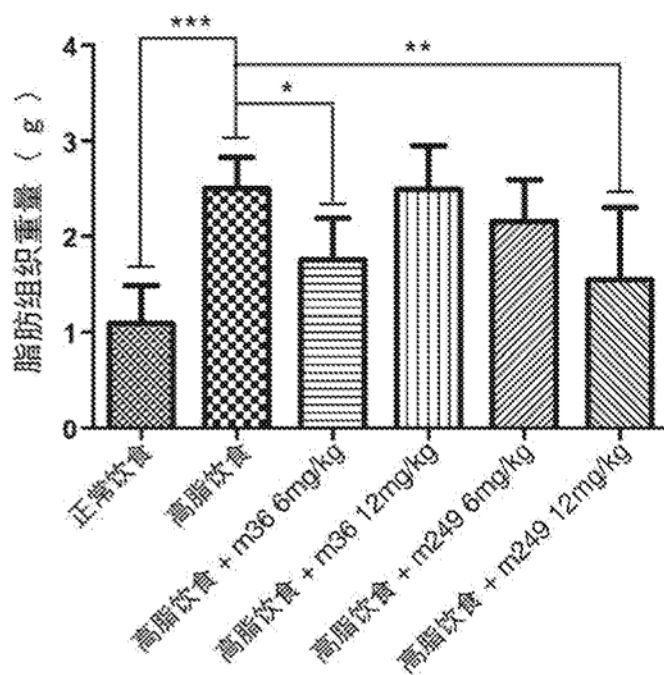


图12B

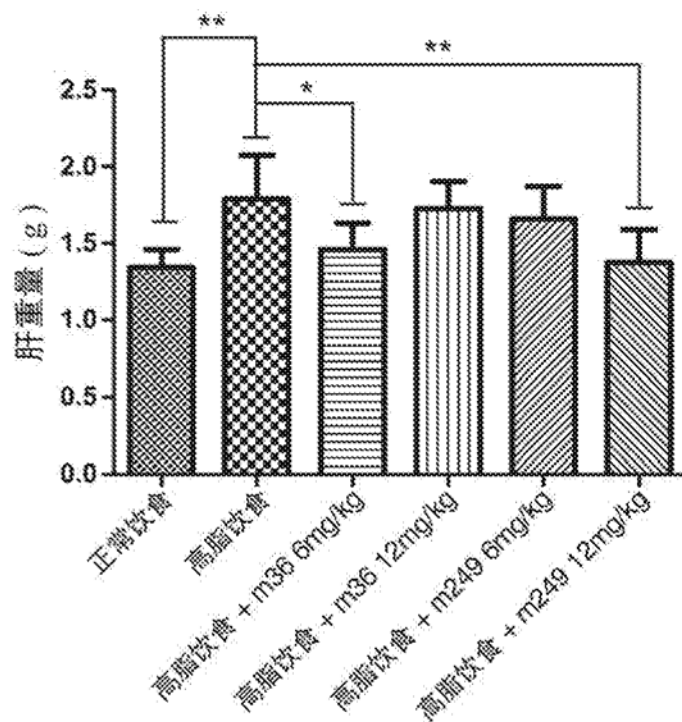


图12C

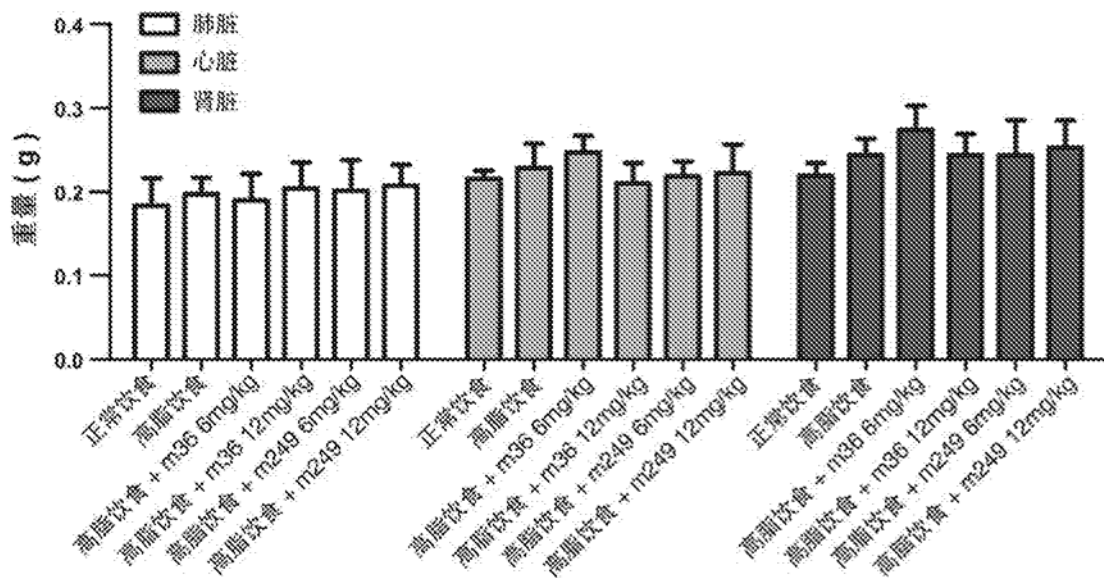


图12D

(M)HSHRDFQPVHLHLVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQA
 AVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDELL
 FPSWEALFSASEGPLKPGARIFSFDGKDVLRHPTWPQKSV
 WHGSDPNRRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRL
 GQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

图13

(M)HSHRDFQPVHLHLVALNSPLSGGMRGIRGADFQCFQQA
 VRRADRAAVPIVNLKDELLFPSWEALFSASKAPLRPGARIFSFDGKDVLRHPTWPQKSVWHG
 SDPNRRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRLGQSAASCHHAYIVLCIENSFMTASK

图14

**MHSHRDFQPVHLHLVALNSPLSGGMRG
 IRGADFQCFQQA
 AVGLAGTFRAFLSS
 RLQDLYSIVRRADRAAVPIVNLKDELLF
 PSWEALFSSEGPLKPGARIFSFDGRDVL
 RHPTWPQRSVWHGSDPNRRRLTESYC
 ETWRTEAPSATGQASSLLGGRLGQSA
 ASCHHAYIVLCIENSFMTASR**

图15

(M)HSHQDFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI
VRRADRAAVPI VNLKDELLFPSWEALFSSEGPLQPGARI FSFDGKDVLRHPTWPQKSVWHGS
DPNGRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VLICI ENSFMTASK

图16

(M)DFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI VRR
DRAAVPI VNLKDELLFPSWEALFSGESGAGKTPGARI FSFDGKDVLRHPTWPQKSVWHGSDP
NGRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VLICI ENSFMTASK

图17

(M)RDFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARQVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI VRR
ADRAAVPI VNLKDELLFPSWEALFSSEGPLKPGARI FSFDGKDVLRHPTWPQKSVWHGSDPNG
RRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VLICI ENSFMTASK

图18

(M)RDFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI VRR
ADRGSVPI VNLKDEVLSPSWDSLFSGSQGQLQPGARI FSFDGRDILQDSAWPQKSVWHGSDA
KGRRLPESYCEAWRTDERGTSGQASSLLSGRILLEQKAASCHNSYI VLICI ENSFMTASK

图19

(M)HSHRDFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI VRR
ADRAAVPI VNLKDELLFPSWEALFSGSEGPLKPGARI FSFDGKDVLRHPTWPQKSVWHGSDPNGR
RLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VLICI ENSFMTASK

图20

(M)GGSHHHHHHSHRDFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLS
SRLQDLYSI VRRADRAAVPI VNLKDELLFPSWEALFSGSEGPLKPGARI FSFDGKDVLRHPTWP
QKSVWHGSDPNGRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VLICI ENSF
MTASK

图21

381

(M)HVHQDFQPALHLVALNTPLSGGMRGI RGADFQCFQQARQVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI
VRRADRTAVPI VNLKDEVLFPSWEALFTGSEAPLRAGARI FSFDGRDVL RHPTWPQKSVWHG
SDPNGRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLAGRILLEQKAAGCHNAFI VL CI ENSFMTSSSK

57

(M)HTHQDFHPVLHLVALNTPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLSGTFRAFLSSRLQDLYSI
VRRADRAAVPI VNLKDELLFPSWEALFSGSEGAGKTGGARI FSFDGRDVL RHPAWPQKSVWHG
GSDPSGRRLTESYCETWRTDSRAATGQASSLLAGRILLEQKAAGCHNAFI VL CI ENSFMTSSSK

114

(M)HSHRDFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI
VRRADRAAVPI VNLKDELLFPSWEALFSGSEGPLKPGARI FSFDGRDVL RHPTWPQKSVWHGS
DPSGHRRLTESYCETWRTDSRAATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VL CI ANSFMTASK

124

(M)DFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI VRRADRAAVPI
VNLKDELLFPSWEALFSGSEGPLRPGARI FSFDGKDVLRHPTLPQKSVWHGSDPSG
RRLTESYCETWRTDSRAATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VL CI ENSFMTASK

图22

125

(M)DFQPVLHLVALNSPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI VRRADRAAVPI
VNLKDELLFPSWEALFSGSEGPLRPGARI FSFDGKDVLRHPTLPQKSVWHGSDPSG
RRLTESYCETWRTDSRAATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VL CI ENSFMTASKK

160

(M)HTHQDFHPVLHLVALNTPLSGGMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI
VRRADRAAVPI VNLKDELLFPSWEALFSGSEGPLKPGARI FSFDGRDILQDSA WPQKSVWHGS
DPNGRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLSSGKLLEQSVSSCQHAFVVLCI ENSFMTAAKK

163

(M)TPTWYPRMLRVAALNEPSTGDLQGI RGADFQCFQQARAVGLSGTFRAFLSSRLQDLYSI VRRADRAAVPI
VNLKDEVLSPSWDSLFSGSQGQLQPGARI FSFDGKDVLRHPTWPQKSVWHGS
DPSGRRLMESYCETWRTETT GATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VL CI ENSFMTNNRK

119

(M)HTHTSGPGLHLIALNSPQVGNMRGI RGADFQCFQQARAVGLAGTFRAFLSSRLQDLYSI VRRADRSSVPI
VNLKDEVLSPSWDSLFSVSQGQLQPGARI FSFDGRDILQDSA WPQKSVWHGS
DPNGRRLTESYCETWRTEAPSATGQASSLLGGRLLGQSAASCHHAYI VL CI ENSFMTASK

图23