



(10) 授权公告号 CN 113698495 B

(45) 授权公告日 2025. 06. 06

(21) 申请号 202110936129.3

(22) 申请日 2015.10.31

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113698495 A

(43) 申请公布日 2021.11.26

(30) 优先权数据
62/073,657 2014.10.31 US

(62) 分案原申请数据
201580067942.4 2015.10.31

(73) 专利权人 武田药品工业株式会社
地址 日本大阪

(72) 发明人 A·诺顿 C·潘
A·伊斯肯德瑞安
B·斯特拉克-罗格

(74) 专利代理机构 北京市君合律师事务所
11517
专利代理师 黄遵玲 顾云峰

(51) Int.Cl.
C07K 19/00 (2006.01)
C12N 15/62 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C12N 15/85 (2006.01)
A61K 38/55 (2006.01)

A61K 47/68 (2017.01)

A61P 9/14 (2006.01)

A61P 7/10 (2006.01)

A61P 37/06 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61P 17/02 (2006.01)

A61P 21/04 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

(56) 对比文件

CN 103476795 A,2013.12.25

WO 2011116291 A1,2011.09.22

Timo Rath等.Fc-fusion proteins and
FcRn: structural insights for longer-
lasting and more effective therapeutics.
《Crit Rev Biotechnol》.2013,第35卷(第2期),
第235-254页.

Maria Coutinho等.Functional Analysis
of the Serpin Domain of C1 Inhibitor.《The
Journal of Immunology》.1994,第153卷(第8
期),第3648-3654页.

审查员 万青

权利要求书1页 说明书62页
序列表70页 附图14页

(54) 发明名称

C1酯酶抑制剂融合蛋白及其用途

(57) 摘要

本发明尤其提供用于治疗补体介导的疾病,特别是需要防治性治疗和/或维持治疗的慢性疾病的方法和组合物。在一个方面,提供相比于天然血浆源性C1-INH,具有更长的半衰期的C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,根据本发明的方法包括向罹患或易患补体介导的疾病的个体施用有效量的重组C1-INH融合蛋白,以使所述补体介导的疾病的至少一种症状或特征得以预防和/或在强度、严重性或频率方面得以降低。

1. 一种融合蛋白,其包含:
人C1-抑制剂多肽;和
Fc结构域,
其中所述融合蛋白由SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15或
SEQ ID NO:16的氨基酸序列组成。
2. 如权利要求1所述的融合蛋白,其中:
 - (a) 所述融合蛋白抑制C1r和/或C1s蛋白酶活性和/或使C1r和/或C1s蛋白酶活性失活;
 - (b) 所述融合蛋白抑制体外红血细胞的溶解;
 - (c) 相比于血浆源性人C1-抑制剂,所述融合蛋白具有更长的半衰期;和/或
 - (d) 所述融合蛋白是单价的或二聚的。
3. 一种核酸,其编码如权利要求1或2所述的融合蛋白。
4. 一种细胞,其包含如权利要求3所述的核酸,其中所述细胞是哺乳动物细胞。
5. 如权利要求4所述的细胞,其中所述哺乳动物细胞是人细胞或中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。
6. 如权利要求4或5所述的细胞,其中所述细胞被工程改造以修饰糖基化。
7. 如权利要求4或5所述的细胞,其中所述细胞被工程改造以改进唾液酸化。
8. 一种产生融合蛋白的方法,其包括培育如权利要求4至7中任一项所述的细胞的步骤。
9. 如权利要求1或2所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白由被工程改造以改进唾液酸化的细胞产生。
10. 一种药物组合物,其包含如权利要求1、2或9中任一项所述的融合蛋白和药学上可接受的载体。
11. 如权利要求1、2或9中任一项所述的融合蛋白或如权利要求10所述的药物组合物在制备用于治疗溶血的病症的药物中的用途。
12. 如权利要求1、2或9中任一项所述的融合蛋白或如权利要求10所述的药物组合物在制备用于治疗遗传性血管性水肿的药物中的用途。
13. 如权利要求11或12所述的用途,其中:
 - (a) 所述融合蛋白抑制C1r和/或C1s蛋白酶活性和/或使C1r和/或C1s蛋白酶活性失活;
 - (b) 所述融合蛋白抑制体外红血细胞的溶解;
 - (c) 相比于血浆源性人C1-抑制剂,所述融合蛋白具有更长的半衰期;和/或
 - (d) 所述融合蛋白是单价或是二聚的。
14. 如权利要求11或12所述的用途,其中每两月、每月、每月两次、每三周、每两周、每周、每周两次、每周三次、每日、每日两次或每六小时施用所述药物。

C1酯酶抑制剂融合蛋白及其用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请是申请号为201580067942.4、申请日为2015年10月31日、发明名称为“C1酯酶抑制剂融合蛋白及其用途”的中国发明专利申请的分案申请,原申请为国际申请号为PCT/US2015/058521的PCT国际申请的中国国家阶段申请,该国际申请要求2014年10月31日提交的美国临时专利申请序列号62/073,657的优先权,所述美国临时专利申请的公开内容据此以引用的方式整体并入本文。

背景

[0003] C1-抑制剂(C1-INH),也称为C1酯酶抑制剂,是丝氨酸蛋白酶抑制剂(serpin)蛋白质超家族的最大成员。它是一种被大量糖基化的丝氨酸蛋白酶抑制剂,具有抑制补体系统的自发性活化的主要功能。C1-INH调控补体级联系统,在调控接触(激肽释放酶(kallikrein)-激肽(kinin))放大级联方面起关键作用,并且参与调控凝血和纤维蛋白溶解系统。Karnaukhova,E.,C1-Esterase Inhibitor:Biological Activities and Therapeutic Applications.J Hematol Thromb Dis,1:113(2013)。

[0004] 受试者中C1-INH功能异常和/或缺陷已与归因于C1-INH未能抑制补体系统的活化的多种自体免疫疾病相关联。此类疾病的一实例是遗传性血管性水肿(HAE),这是一种特征在于炎症不可预测且反复发作的罕见但潜在危急生命的病症。HAE发作的症状包括自发出现或由轻微创伤触发的面部、口腔和/或气道肿胀。此类肿胀也可出现在身体任何部分中。在一些情况下,HAE与低血浆水平的C1抑制剂相关,而在其它情况下,该蛋白质以正常量或升高量进行循环,但它是功能异常的。除炎症发作之外,这也可导致更严重或危急生命的适应症,诸如自体免疫疾病或红斑狼疮。

[0005] **CINRYZE®**作为一种人血浆源性C1酯酶抑制剂,已被核准供防治性使用和治疗急性HAE发作。**Berinert®**(也是一种血浆源性人C1-INH,CSL Behring)被指示用于治疗急性HAE发作。人血浆源性C1酯酶抑制剂的供应依赖于血液和血浆捐献品的可用性。**Ruconest®**(阿法可奈司他(conestat alfa),Pharming N.V.)作为一种在工程改造的兔中表达的重组C1-INH被指示用于静脉内(IV)施用来治疗急性HAE发作。然而,因为**Ruconest®**在兔中制备,所以它的糖基化特征不同于人血浆源性C1-INH的糖基化特征。结果是Ruconest具有约2.4-2.7小时的极其短暂半衰期。参见**Ruconest®** FDA标签和处方信息。

[0006] 因此,本领域中仍然需要用于治疗各种C1酯酶介导的适应症的改进的C1酯酶抑制剂。

发明概述

[0007] 本发明尤其提供可用于有效治疗各种补体介导的病症,并且可以有成本效益的方式(cost-effective manner)制造的改进的长效重组C1酯酶抑制剂。

[0008] 具体而言,本发明提供相比于 **Ruconest**[®] 展现更长半衰期的C1酯酶抑制剂融合蛋白。在一些实施方案中,相比于血浆源性C1-INH,本发明的C1抑制剂融合蛋白展现类似或更长的半衰期。举例来说,本发明者已证明根据本发明的某些示例性C1抑制剂融合蛋白具有至少4天的延长的血清半衰期。预期重组C1抑制剂的长久血清半衰期导致优越的体内功效,并且允许达成更好的给药方案和施用途径。在某些实施方案中,相比于核准的C1抑制剂,本发明的C1抑制剂融合蛋白可以较小频率皮下施用,同时仍然实现所需功效(例如防治)。此外,本发明的C1抑制剂融合蛋白可在宿主细胞中重组产生以使公开的C1抑制剂融合蛋白不依赖于血液供应,不引起传播传染剂的风险,并且对于制造来说花费较少。因为它们在宿主细胞中重组产生,所以相比于从人血液、人血液组分(例如血浆)或动物乳汁纯化的那些产品,它们在产生和最终产品方面提供更大一致性。此外,本文提供的C1抑制剂融合蛋白不依赖于畜牧业考虑事项,包括动物年龄和/或成熟期、产奶量、动物疾病等,其全部可影响兔表达的C1-INH的数量与质量(例如糖基化特征、表达的蛋白质的异质性等)两者。因此,本发明提供对重组C1酯酶抑制剂的有成本效益且可靠的制造,以及对HAE和其它补体介导的病症的更安全、更有效的治疗。本发明的其它特征、目标和优势在随后详细描述中是显而易见的。然而,应了解尽管指示本发明的实施方案,但详细描述仅通过说明而非限制方式给出。在本发明的范围内的各种变化和修改将根据详细描述而变得为本领域技术人员显而易见。

[0009] 在一个方面,本发明提供一种包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白。在一些实施方案中,人C1-抑制剂多肽包含与具有SEQ ID NO:1的全长人C1-抑制剂具有至少50%(例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0010] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:1,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0011] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:2具有至少50%(例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一

些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:2,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0012] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域连接于所述人C1-抑制剂多肽的N末端。在一些实施方案中,Fc结构域是人IgG1 Fc结构域。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域连接于所述人C1-抑制剂多肽的N末端。在一些实施方案中,Fc结构域源于人IgG1 Fc结构域。在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含与SEQ ID NO:3具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG1 Fc结构域SEQ ID NO:3具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG1 Fc结构域SEQ ID NO:3具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG1 Fc结构域SEQ ID NO:3具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG1 Fc结构域SEQ ID NO:3具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG1 Fc结构域SEQ ID NO:3同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:3,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0013] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含L234A突变。在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含L235A突变。在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含L234A突变和L235A突变。在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含L234A突变或L235A突变。

[0014] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:4。在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含一个或多个延长包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的半衰期的突变。在一些实施方案中,Fc结构域的突变包括一个或多个突变,所述突变选自一个或多个对应于人IgG1的Thr250、Met 252、Ser254、Thr256、Thr 307、Glu 380、Met428、His 433和/或Asn434的位置。

[0015] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含H433K突变。在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含N434F突变。在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含H433K突变和N434F突变。在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含H433K突变或N434F突变。

[0016] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:5具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制

剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:5,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0017] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:6具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:6具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:6具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:6具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:6具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:6同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:6,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0018] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:7具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:7具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:7具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:7具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:7具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:7同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:7,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0019] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:8具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:8具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:8具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:8具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:8具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:8同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:8,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8中的任一个具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、

96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。

[0020] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8中的任一个具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8中的任一个具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8中的任一个具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8中的任一个具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8中的任一个同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7或SEQ ID NO:8,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0021] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域连接于所述人C1-抑制剂多肽的N末端。在一些实施方案中,Fc结构域是人IgG4 Fc结构域。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域连接于所述人C1-抑制剂多肽的N末端。在一些实施方案中,Fc结构域源于人IgG4 Fc结构域。

[0022] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含与SEQ ID NO:9具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG4 Fc结构域SEQ ID NO:9具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG4 Fc结构域SEQ ID NO:9具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG4 Fc结构域SEQ ID NO:9具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG4 Fc结构域SEQ ID NO:9具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与人IgG4 Fc结构域SEQ ID NO:9同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:9,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0023] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包含S241P突变。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:10具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:10具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:10具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:10具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:10具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:10同一的氨基酸序列。在一些实

施方案中,相较于SEQ ID NO:10,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0024] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:11具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:11具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:11具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:11具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:11具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:11同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:11,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0025] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:12具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:12具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:12具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:12具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:12具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:12同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:12,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0026] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:13具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:13具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:13具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:13具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:13具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:13同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:13,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0027] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:14具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:14具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实

施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:14具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:14具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:14具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:14同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:14,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0028] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:15具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:15具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:15具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:15具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:15具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:15同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:15,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0029] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含与SEQ ID NO:16具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:16具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:16具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:16具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:16具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包括与SEQ ID NO:16同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:16,包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0030] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白包含在所述人C1-抑制剂多肽与所述Fc结构域之间的接头。在一些实施方案中,接头是包含3-100个氨基酸的肽。

[0031] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白结合FcRN。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白抑制C1酯酶活性。

[0032] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含降低或消除ADCC活性的突变。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含一个或多个降低或消除ADCC活性的突变。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含降低或消除CDC活

性的突变。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含一个或多个降低或消除CDC活性的突变。

[0033] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含降低或消除Fc γ R结合的突变。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含一个或多个降低或消除Fc γ R结合的突变。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含降低或消除Fc γ R效应功能的突变。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含一个或多个降低或消除Fc γ R效应功能的突变。

[0034] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含降低或消除C1q结合的突变。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述Fc结构域包含一个或多个降低或消除C1q结合的突变。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,降低或消除C1q结合的突变在所述Fc结构域中。

[0035] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白抑制C1r和/或C1s蛋白酶活性和/或使C1r和/或C1s蛋白酶活性失活。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白抑制体外红血细胞的溶解。

[0036] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,相比于血浆源性人C1-抑制剂,所述融合蛋白具有更长的半衰期。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有至少4天的半衰期。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有至少5天的半衰期。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有至少6天的半衰期。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有至少7天的半衰期。

[0037] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有是或大于约12小时、18小时、24小时、36小时、2天、2.5天、3天、3.5天、4天、4.5天、5天、5.5天、6天、6.5天、7天、7.5天、8天、8.5天、9天、9.5天或10天的体内半衰期。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白具有介于0.5与10天之间、介于1天与10天之间、介于1天与9天之间、介于1天与8天之间、介于1天与7天之间、介于1天与6天之间、介于1天与5天之间、介于1天与4天之间、介于1天与3天之间、介于2天与10天之间、介于2天与9天之间、介于2天与8天之间、介于2天与7天之间、介于2天与6天之间、介于2天与5天之间、介于2天与4天之间、介于2天与3天之间、介于2.5天与10天之间、介于2.5天与9天之间、介于2.5天与8天之间、介于2.5天与7天之间、介于2.5天与6天之间、介于2.5天与5天之间、介于2.5天与4天之间、介于3天与10天之间、介于3天与9天之间、介于3天与8天之间、介于3天与7天之间、介于3天与6天之间、介于3天与5天之间、介于3天与4天之间、介于3.5天与10天之间、介于3.5天与9天之间、介于3.5天与8天之间、介于3.5天与7天之间、介于3.5天与6天之间、介于3.5天与5天之间、介于3.5天与4天之间、介于4天与10天之间、介于4天与9天之间、介于4天与8天之间、介于4天与7天之间、介于4天与6天之间、介于4天与5天之间、介于4.5天与10天之间、介于4.5天与9天之间、介于4.5天与8天之间、介于4.5天与7天之间、介于4.5天与6天之间、介于4.5天与5天之间、介于5天与10天之间、介于5天与9天之间、介于5天与8天之间、介于5天与7天

之间、介于5天与6天之间、介于5.5天与10天之间、介于5.5天与9天之间、介于5.5天与8天之间、介于5.5天与7天之间、介于5.5天与6天之间、介于6天与10天之间、介于7天与10天之间、介于8天与10天之间、介于9天与10天之间的体内半衰期。

[0038] 在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白是单价的。在包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白是二聚的。

[0039] 在一个方面,本发明提供一种包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白。在一些实施方案中,人C1-抑制剂多肽包含与具有SEQ ID NO:1的全长人C1-抑制剂具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:1同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:1,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0040] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含与SEQ ID NO:2具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与全长人C1-抑制剂蛋白SEQ ID NO:2同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:2,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0041] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述白蛋白连接于所述人C1-抑制剂多肽的N末端。。在一些实施方案中,白蛋白多肽包含人血清白蛋白的一个或多个结构域。在一些实施方案中,白蛋白多肽包含人血清白蛋白的D3结构域。在一些实施方案中,白蛋白多肽源于人血清白蛋白。。在一些实施方案中,白蛋白多肽是人血清白蛋白。

[0042] 在一些实施方案中,适于本发明的白蛋白多肽包含与SEQ ID NO:20具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或

100%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:20具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:20具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:20具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:20具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:20同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:20,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0043] 在一些实施方案中,适于本发明的白蛋白多肽包含与SEQ ID NO:17具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:17具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:17具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:17具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:17具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与人白蛋白多肽SEQ ID NO:17同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:17,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0044] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白包含与SEQ ID NO:18具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:18具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:18具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:18具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:18具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:18同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:18,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0045] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白包含与SEQ ID NO:19具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:19具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包

括与SEQ ID NO:19具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:19具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:19具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:19同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:19,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0046] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白包含与SEQ ID NO:21具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:21具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:21具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:21具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:21具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:21同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:21,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0047] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白包含与SEQ ID NO:22具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:22具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:22具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:22具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:22至少95%同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:22同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:22,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0048] 在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22中的任一个具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22中的任一个具有至少70%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22中的任一个具有至少80%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、

SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22中的任一个具有至少90%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22中的任一个具有至少95%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包括与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22中的任一个同一的氨基酸序列。在一些实施方案中,相较于SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22,包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白包含一个或多个截短、缺失、突变或插入。

[0049] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白结合FcRN。在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白抑制C1酯酶活性。在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白抑制C1r和/或C1s蛋白酶活性和/或使C1r和/或C1s蛋白酶活性失活。在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白抑制体外红血细胞的溶解。

[0050] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白包含在所述人C1-抑制剂多肽与所述白蛋白多肽之间的接头。在一些实施方案中,接头是包含3-100个氨基酸的肽。在一些实施方案中,接头包含序列GGG。在一些实施方案中,接头包含序列SEQ ID NO:27。

[0051] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述白蛋白多肽不包含一个或多个选自由464His、510His、535His和/或其组合组成的组的突变。

[0052] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,相比于血浆源性人C1-抑制剂,所述融合蛋白具有更长的半衰期。在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有至少4天的半衰期。在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有至少5天的半衰期。在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有至少6天的半衰期。在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有至少7天的半衰期。

[0053] 在包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白的一些实施方案中,所述融合蛋白具有是或大于约12小时、18小时、24小时、36小时、2天、2.5天、3天、3.5天、4天、4.5天、5天、5.5天、6天、6.5天、7天、7.5天、8天、8.5天、9天、9.5天或10天的体内半衰期。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白具有介于0.5与10天之间、介于1天与10天之间、介于1天与9天之间、介于1天与8天之间、介于1天与7天之间、介于1天与6天之间、介于1天与5天之间、介于1天与4天之间、介于1天与3天之间、介于2天与10天之间、介于2天与9天之间、介于2天与8天之间、介于2天与7天之间、介于2天与6天之间、介于2天与5天之间、介于2天与4天之间、介于2天与3天之间、介于2.5天与10天之间、介于2.5天与9天之间、介于2.5天与8天之间、介于2.5天与7天之间、介于2.5天与6天之间、介于2.5天与5天之间、介于2.5天与4天之间、介于3天与10天之间、介于3天与9天之间、介于3天与8天之间、介于3天与7天之间、介于3天与6天之间、介于3天与5天之间、介于3天与4天之间、介于3.5天与10天之间、介于3.5天与9天之间、介于3.5天与8天之间、介于3.5天与7天之间、介于3.5天与6天之间、介于3.5天与5天之

间、介于3.5天与4天之间、介于4天与10天之间、介于4天与9天之间、介于4天与8天之间、介于4天与7天之间、介于4天与6天之间、介于4天与5天之间、介于4.5天与10天之间、介于4.5天与9天之间、介于4.5天与8天之间、介于4.5天与7天之间、介于4.5天与6天之间、介于4.5天与5天之间、介于5天与10天之间、介于5天与9天之间、介于5天与8天之间、介于5天与7天之间、介于5天与6天之间、介于5.5天与10天之间、介于5.5天与9天之间、介于5.5天与8天之间、介于5.5天与7天之间、介于5.5天与6天之间、介于6天与10天之间、介于7天与10天之间、介于8天与10天之间、介于9天与10天之间的体内半衰期。

[0054] 在一个方面,本发明提供一种编码融合蛋白的核酸,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白中的任一种。在另一方面,本发明提供一种编码融合蛋白的核酸,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白中的任一种。

[0055] 在一个方面,本发明提供一种包含编码融合蛋白的核酸的细胞,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白中的任一种。在另一方面,本发明提供一种包含编码融合蛋白的核酸的细胞,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白中的任一种。

[0056] 在一些实施方案中,细胞是哺乳动物细胞。在一些实施方案中,哺乳动物细胞是人细胞。在一些实施方案中,哺乳动物细胞是中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。在一些实施方案中,细胞被工程改造以修饰由细胞表达的蛋白质的糖基化。在一些实施方案中,细胞被工程改造以相较于尚未被工程改造的相同细胞,修饰由细胞表达的蛋白质的糖基化。在一些实施方案中,细胞被工程改造以使由细胞表达的蛋白质的糖基化增强、改进、增加和/或人源化。在一些实施方案中,细胞被工程改造以相较于尚未被工程改造的相同细胞,使由细胞表达的蛋白质的糖基化增强、改进、增加和/或人源化。在一些实施方案中,细胞被工程改造以修饰由细胞表达的蛋白质的唾液酸化。在一些实施方案中,细胞被工程改造以相较于尚未被工程改造的相同细胞,修饰由细胞表达的蛋白质的唾液酸化。在一些实施方案中,细胞被工程改造以使由细胞表达的蛋白质的唾液酸化增强、改进、增加和/或人源化。在一些实施方案中,细胞被工程改造以相较于尚未被工程改造的相同细胞,使由细胞表达的蛋白质的唾液酸化增强、改进、增加和/或人源化。

[0057] 在一个方面,本发明提供一种产生融合蛋白的方法,其包括培养或培育包含编码融合蛋白的核酸的细胞的步骤,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白中的任一种。在一个方面,本发明提供一种产生融合蛋白的方法,其包括培养或培育包含编码融合蛋白的核酸的细胞的步骤,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白中的任一种。

[0058] 在另一方面,本发明提供一种包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域,并且由被工程改造以使糖基化修饰、增强、改进、增加和/或人源化的细胞表达或产生的融合蛋白。在另一方面,本发明提供一种包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域,并且由被工程改造以使唾液酸化修饰、增强、改进、增加和/或人源化的细胞表达或产生的融合蛋白。在另一方面,本发明提供一种包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽,并且由被工程改造以使糖基化修饰、增强、改进、增加和/或人源化的细胞表达或产生的融合蛋白。在另一方面,本发明提供一种包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽,并且由被工程改造以使唾液酸化修饰、增强、改进、增加和/或人

源化的细胞表达或产生的融合蛋白。

[0059] 在另一方面,本发明提供一种包含融合蛋白和药学上可接受的载体的药物组合物,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白中的任一种。在另一方面,本发明提供一种包含融合蛋白和药学上可接受的载体的药物组合物,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白中的任一种。

[0060] 在一个方面,本发明提供一种治疗补体介导的病症的方法,其包括向需要治疗的受试者施用包含融合蛋白和药学上可接受的载体的药物组合物,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和Fc结构域的融合蛋白中的任一种。在一个方面,本发明提供一种治疗补体介导的病症的方法,其包括向需要治疗的受试者施用包含融合蛋白和药学上可接受的载体的药物组合物,所述融合蛋白是本文公开的包含人C1-抑制剂多肽和白蛋白多肽的融合蛋白中的任一种。

[0061] 在一些实施方案中,需要治疗的受试者患有补体介导的病症。在一些实施方案中,补体介导的病症选自遗传性血管性水肿、抗体介导的排斥、视神经脊髓炎谱系病症、创伤性脑损伤、脊髓损伤、缺血性脑损伤、灼烧损伤、中毒性表皮坏死溶解、多发性硬化症、肌萎缩性脊髓侧索硬化(ALS)、帕金森氏病(Parkinson's disease)、中风、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病变(CIDP)、重症肌无力、多灶性运动神经病变。

附图简述

[0062] 附图仅出于说明目的而非出于限制目的。

[0063] 图1A是C1-INH的图示。从右至左,三个结构域是信号肽、也被称为N末端结构域的N-末端、和丝氨酸蛋白酶抑制剂结构域。N连接的聚糖显示为具有菱形头部的长垂直线,并且O连接的聚糖显示为短垂直线。图1B是示例性二聚C1-INH Fc融合蛋白的图示。C1-INH多肽部分由矩形指示,并且Fc部分由椭圆形区段指示。图1C是示例性单体C1-INH Fc融合蛋白的图示。

[0064] 图2A-2D是示例性C1-INH融合蛋白的图示。图2A是具有LALA突变的IgG1 Fc融合于全长C1-INH多肽(显示为阴影矩形)的表示。图2B是具有LALA突变的IgG1 Fc融合于截短的C1-INH多肽(显示为阴影矩形)的表示。图2C是具有S241P突变的IgG4 Fc融合于全长C1-INH多肽(显示为阴影矩形)的表示。图2D是具有S241P突变的IgG4 Fc融合于截短的C1-INH多肽(显示为阴影矩形)的表示。

[0065] 图3显示对全长C1-INH人Fc(hFc) IgG1 LALA融合蛋白的示例性蛋白质A纯化的结果。该图显示在纯化过程期间,在融合蛋白的捕获和洗脱期间,UV 280nm、UV 260nm、浓度和pH随时间的结果。

[0066] 图4是在以下四种示例性Fc融合构建体的纯化期间收集的浓度和总蛋白量的图:全长(FL)C1-INH hFc IgG1 LALA融合蛋白;截短的(Tr)C1-INH hFc IgG1 LALA融合蛋白;全长(FL)C1-INH hFc IgG4m(IgG4 S241P)融合蛋白;截短的(Tr)C1-INH hFc IgG4m(IgG4S241P)融合蛋白。

[0067] 图5是描绘在全长(FL)C1-INH hFc IgG1 LALA融合蛋白;截短的(Tr)C1-INH hFc IgG1 LALA融合蛋白;全长(FL)C1-INH hFc IgG4m(IgG4 S241P)融合蛋白;截短的(Tr)C1-INH hFc IgG4m(IgG4S241P)融合蛋白的纯化样品中检测的内毒素的量的图。

[0068] 图6显示hFc IgG1-C1-INH、hFc LALA IgG1-C1-INH和hFc IgG4m-C1-INH融合物、重组人C1-INH(rhC1-INH) (在1080细胞中表达)、以及作为阳性对照的IgG1 Fc-人卵泡抑素(hFc IgG1-hFst-XTEN)融合物和作为阴性对照的人卵泡抑素-Xten(hFst-XTEN)融合物的示例性C1q结合ELISA的结果。

[0069] 图7是用于测量示例性融合构建体与Fc γ R1的细胞外结构域的结合的表面等离子体共振 (SPR) Biacore捕获方法的示意图。

[0070] 图8显示以下示例性效应物失效Fc融合构建体 (effector dead Fc fusion construct) 的SPR分析结果:全长 (FL) C1-INH hFc IgG1 LALA融合蛋白;截短的 (Tr) C1-INH hFc IgG1 LALA融合蛋白;全长 (FL) C1-INH hFc IgG4m(IgG4 S241P) 融合蛋白;截短的 (Tr) C1-INH hFc IgG4m(IgG4 S241P) 融合蛋白。包括血浆源性C1-INH作为阳性对照。

[0071] 图9A和9B呈现用以测量效应物失效构建体抑制C1s裂解比色肽的能力的测定的结果。图9A显示使用测试的各示例性效应物失效构建体的质谱测定法计算的分子量获得的各构建体的滴定曲线。图9B显示使用测试的各示例性效应物失效构建体的凝胶估计的分子量获得的的各构建体的滴定曲线。

[0072] 图10A描绘用以测量替代性补体途径 (APC) 的活化的溶血测定的示意性概要。图10B描绘用以测量经典补体途径的活化的溶血测定的示意性概要。

[0073] 图11A、11B和11C显示用以测量替代性补体途径的活化的溶血测定的结果。图11A显示比较截短的 (Tr) C1-INH hFc IgG1 LALA融合蛋白、全长 (FL) C1-INH hFc IgG1 LALA融合蛋白、血浆源性C1-INH制剂和CalBiochem可商购获得的血浆源性C1-INH的结果。根据测试蛋白质的浓度将吸光度读数绘制为对照的百分比。图11B显示对于各样品收集的原始数据的图。图11C显示在测定中操作的对照的图。

[0074] 图12显示效应物失效融合构建体相较于血浆源性C1-抑制剂和HT1080表达的重组C1-INH两种制剂的兔PK研究的示例性结果。静脉内施用血浆源性C1-INH展现单相血清浓度-时间曲线。

[0075] 图13A-13F是产生的示例性白蛋白融合构建体的图示。图13A是人血清白蛋白 (HSA) 融合于C1-INH的图示。图13B是HSA通过GGG接头来接合于C1-INH的图示。图13C是HSA通过 (GGGS) 2接头来接合于C1-INH的图示。图13D是HSA的D3结构域融合于C1-INH的图示。图13E是HSA的D3结构域通过GGG接头来接合于C1-INH的图示。图13F是HSA的D3结构域通过 (GGGS) 2接头来接合于C1-INH的图示。

[0076] 图14呈现用以测量一些示例性白蛋白C1-INH融合构建体抑制C1s裂解比色肽的能力的测定的结果,包括血浆源性C1-INH和HT1080表达的重组C1-INH以进行比较。

[0077] 定义

[0078] 为使本发明更易于理解,以下首先定义某些术语。以下术语和其它术语的额外定义在整篇说明书中加以阐述。

[0079] 动物:如本文所用,术语“动物”是指动物界的任何成员。在一些实施方案中,“动物”是指处于任何发育阶段的人。在一些实施方案中,“动物”是指处于任何发育阶段的非人动物。在某些实施方案中,非人动物是哺乳动物 (例如啮齿动物、小鼠、大鼠、兔、猴、狗、猫、绵羊、牛、灵长类动物和/或猪)。在一些实施方案中,动物包括但不限于哺乳动物、鸟、爬行动物、两栖动物、鱼、昆虫和/或蠕虫。在一些实施方案中,动物可为转基因动物、遗传工程改

造动物和/或克隆。

[0080] 近似或约:如本申请中所用,术语“约”和“近似”用作等效语。与或不与约/近似一起用于本申请中的任何数字都意图涵盖由相关领域普通技术人员所了解的任何正常波动。如本文所用,如应用于一个或多个目标值的术语“近似”或“约”是指数值类似于所述参照值。在某些实施方案中,除非另外陈述或另外根据上下文是明显的,否则术语“近似”或“约”是指一定范围的数值落在所述参照值在任一方向(大于或小于)上的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小内(例外之处是当此类数值将超过可能值的100%时)。

[0081] 生物利用度:如本文所用,术语“生物利用度”通常是指到达受试者的血流的施用剂量的百分比。

[0082] 生物活性:如本文所用,短语“生物活性”是指任何药剂在生物系统中,并且特别是在生物体中具有活性的特征。举例来说,当向生物体施用,对该生物体具有生物作用的药剂被视为具有生物活性。在特定实施方案中,当肽具有生物活性时,该肽的分担所述肽的至少一种生物活性的部分通常被称为“生物活性”部分。

[0083] 载体或稀释剂:如本文所用,术语“载体”和“稀释剂”是指适用于制备药物制剂的药学上可接受的(例如对于向人施用是安全的和无毒的)载体或稀释物质。示例性稀释剂包括无菌水、抑菌性注射用水(BWFI)、pH缓冲溶液(例如磷酸盐缓冲盐水)、无菌盐水溶液、林格氏溶液(Ringer's solution)或右旋糖溶液。

[0084] C1-抑制剂或C1酯酶抑制剂或C1-INH:如本文所用,术语“C1-抑制剂”或“C1酯酶抑制剂”或“C1-INH”全都可互换使用,并且除非另外规定,否则是指保留基本上C1-INH生物活性的任何野生型或经修饰的C1-INH多肽(例如具有氨基酸突变、缺失、插入的C1-INH蛋白和/或融合蛋白)。C1-INH可在细胞中重组表达。在某些实施方案中,C1-INH在哺乳动物细胞,优选是CHO细胞或人细胞中表达。

[0085] 功能性等效物或衍生物:如本文所用,在氨基酸序列的功能性衍生物的情形下,术语“功能性等效物”或“功能性衍生物”表示保留基本上类似于原始序列的生物活性的生物活性(功能或结构)的分子。功能性衍生物或等效物可为天然衍生物,或以合成方式制备。示例性功能衍生物包括具有一个或多个氨基酸的取代、缺失或添加的氨基酸序列,前提是蛋白质的生物活性得以保持。取代性氨基酸合乎需要地具有与被取代的氨基酸的化学物理性质类似的化学物理性质。所需类似化学物理性质包括在电荷、体积大小、疏水性、亲水性等方面的类似性。

[0086] 融合蛋白:如本文所用,术语“融合蛋白”或“嵌合蛋白”是指通过接合两个或更多个最初分开的蛋白质或其部分产生的蛋白质。在一些实施方案中,接头或间隔体将存在于各蛋白质之间。

[0087] 半衰期:如本文所用,术语“半衰期”是为数量诸如蛋白质浓度或活性降至它的如在某一时期开始时测量的值的一半所需的时间。

[0088] 遗传性血管性水肿或HAE:如本文所用,术语“遗传性血管性水肿”或“HAE”是指一种特征在于炎症不可预测且反复发作的血液病症。HAE通常伴有C1-INH缺乏,其可为C1-INH的水平较低或C1-INH的活性受损或降低的结果。症状包括但不限于可出现在身体的任何部分诸如面部、四肢、生殖器、胃肠道和上气道中的肿胀。

[0089] 改进、增加或降低:如本文所用,术语“改进”、“增加”或“降低”或语法等效形式指示数值相对于基线测量结果,所述基线测量结果诸如同一个体中在起始本文所述的治疗之前的测量结果,或对照受试者(或多个对照受试者)中不存在本文所述的治疗下的测量结果。“对照受试者”是与所治疗的受试者受相同形式的疾病折磨,与所治疗的受试者具有大约相同的年龄的受试者。

[0090] 体外:如本文所用,术语“体外”是指事件发生在人工环境中,例如试管或反应容器中,细胞培养中等,而非在多细胞生物体内。

[0091] 体内:如本文所用,术语“体内”是指事件发生在多细胞生物体诸如人和非人动物内。在基于细胞的系统的情形下,所述术语可用于指代事件发生在活细胞内(与例如体外系统相对比)。

[0092] 接头:如本文所用,术语“接头”是指在融合蛋白中,除出现在天然蛋白质中的特定位置处的氨基酸序列以外的氨基酸序列,并且通常被设计以具有可挠性或插入两个蛋白质部分之间的结构诸如 α -螺旋。接头也被称为间隔体。接头或间隔体通常自身不具有生物功能。

[0093] 多肽:如本文所用的术语“多肽”是指通过肽键连接在一起的氨基酸的连续链。所述术语用于指代具有任何长度的氨基酸链,但本领域普通技术人员将了解,所述术语不限于长链,并且可指包含通过肽键连接在一起的两个氨基酸的最小链。如为本领域技术人员所知,多肽可被加工和/或修饰。如本文所用,术语“多肽”和“肽”可互换使用。

[0094] 预防:如本文所用,术语“预防(prevent/prevention)”在与疾病、病症和/或病状的发生关联使用时是指降低发展所述疾病、病症和/或病状的风险。参见对“风险”的定义。

[0095] 蛋白质:如本文所用的术语“蛋白质”是指一个或多个充当离散单元的多肽。如果单一多肽是离散的功能性单元,并且不需要与其它多肽永久或暂时物理缔合以形成离散的功能性单元,那么术语“多肽”和“蛋白质”可互换使用。如果离散的功能性单元包含一个以上彼此物理缔合的多肽,那么术语“蛋白质”是指物理偶联,并且一起充当离散单元的多个多肽。

[0096] 风险:如将根据上下文所了解,疾病、病症和/或病状的“风险”包括特定个体将发展疾病、病症和/或病状(例如肌营养不良)的可能性。在一些实施方案中,将风险表示为百分比。在一些实施方案中,风险是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、30、40、50、60、70、80、90直至100%。在一些实施方案中,将风险表示为相对于与某一参照样本或一组参照样本相关的风险的风险。在一些实施方案中,某一参照样本或一组参照样本具有疾病、病症、病状和/或事件(例如肌营养不良)的已知风险。在一些实施方案中,某一参照样本或一组参照样本来自与特定个体类似的个体。在一些实施方案中,相对风险是0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更大。

[0097] 受试者:如本文所用,术语“受试者”是指人或任何非人动物(例如小鼠、大鼠、兔、狗、猫、牛、猪、绵羊、马或灵长类动物)。人包括出生前和出生后形式。在许多实施方案中,受试者是人类。受试者可为患者,其是指向医疗提供者呈递以供诊断或治疗疾病的人。术语“受试者”在本文中可与“个体”或“患者”互换使用。受试者可受疾病或病症折磨或易患疾病或病症,但可能显示或可能不显示所述疾病或病症的症状。

[0098] 基本上:如本文所用,术语“基本上”是指展现总体或接近总体范围或程度的目标

特征或性质的定性情况。生物领域普通技术人员将了解生物和化学现象很少(如果曾发生的话)达到完全和/或进行至完全或实现或避免绝对结果。因此,术语“基本上”在本文中用于体现许多生物和化学现象中固有的潜在完全性缺乏。

[0099] 基本上同源性:短语“基本上同源性”在本文中用于指代氨基酸或核酸序列之间的比较。如将由本领域普通技术人员所了解,如果两个序列在相应位置中含有同源性残基,那么它们通常被视为“基本上同源”。同源性残基可为同一残基。或者,同源性残基可为将具有适当类似结构和/或功能特征的非同一残基。举例来说,如本领域普通技术人员所熟知,某些氨基酸通常被分类为“疏水性”或“亲水性”氨基酸,和/或具有“极性”或“非极性”侧链。将一个氨基酸取代成相同类型的另一个氨基酸可常被视为“同源性”取代。

[0100] 如本领域中所熟知,可使用多种算法中的任一种来比较氨基酸或核酸序列,所述算法包括商业计算机程序中可用的那些,诸如针对核苷酸序列的BLASTN以及针对氨基酸序列的BLASTP、空位BLAST和PSI-BLAST。示例性此类程序描述于Altschul等, Basic local alignment searchtool, J.Mol.Biol., 215(3):403-410, 1990; Altschul等, Methods in Enzymology; Altschul等, “GappedBLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs”, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997; Baxevanis等, Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998; 以及 Misener等(编), Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, 第132卷), Humana Press, 1999中。除鉴定同源性序列之外,以上提及的程序也通常提供对同源性程度的指示。在一些实施方案中,如果在一段相关残基上,两个序列的相应残基中有至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多是同源的,那么它们被视为基本上同源。在一些实施方案中,相关链段是完整序列。在一些实施方案中,相关链段是至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500或更多个残基。

[0101] 基本上同一性:短语“基本上同一性”在本文中用于指代氨基酸或核酸序列之间的比较。如将由本领域普通技术人员所了解,如果两个序列在相应位置中含有同一残基,那么它们通常被视为“基本上同一”。如本领域中所熟知,可使用多种算法中的任一种来比较氨基酸或核酸序列,所述算法包括商业计算机程序中可用的那些,诸如针对核苷酸序列的BLASTN以及针对氨基酸序列的BLASTP、空位BLAST和PSI-BLAST。示例性此类程序描述于Altschul等, Basic local alignment searchtool, J.Mol.Biol., 215(3):403-410, 1990; Altschul等, Methods in Enzymology; Altschul编, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402, 1997; Baxevanis等, Bioinformatics: A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins, Wiley, 1998; 以及 Misener等(编), Bioinformatics Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology, 第132卷), Humana Press, 1999中。除鉴定同一序列之外,以上提及的程序也通常提供对同一性程度的指示。在一些实施方案中,如果在一段相关残基上,两个序列的相应残基中有至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多是同一的,那么它们被视为基本上同一。在一些实施方案中,相关链段是完整序列。在一些实施方案中,相关链段是至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、125、150、175、200、225、

250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500或更多个残基。

[0102] 罹患：正“罹患”疾病、病症和/或病状的个体已被诊断有或显示所述疾病、病症和/或病状的一种或多种症状。

[0103] 易患：“易患”疾病、病症和/或病状的个体尚未被诊断有所述疾病、病症和/或病状。在一些实施方案中，易患疾病、病症和/或病状的个体可不展现所述疾病、病症和/或病状的症状。在一些实施方案中，易患疾病、病症、病状或事件（例如DMD）的个体可具有一个或多个以下特征：(1) 与发展所述疾病、病症和/或病状相关的遗传突变；(2) 与发展所述疾病、病症和/或病状相关的遗传多态性；(3) 与所述疾病、病症和/或病状相关的蛋白质的表达和/或活性增加和/或降低；(4) 与发展所述疾病、病症、病状和/或事件相关的习惯和/或生活方式；(5) 已经受、计划经受或需要移植。在一些实施方案中，易患疾病、病症和/或病状的个体将发展所述疾病、病症和/或病状。在一些实施方案中，易患疾病、病症和/或病状的个体将不发展所述疾病、病症和/或病状。

[0104] 治疗有效量：如本文所用，术语治疗剂的“治疗有效量”意指当向罹患或易患疾病、病症和/或病状的受试者施用，足以治疗、诊断、预防所述疾病、病症和/或病状的症状和/或延迟其发作的量。本领域普通技术人员应了解，治疗有效量通常通过包含至少一个单位剂量的给药方案施用。

[0105] 治疗：如本文所用，术语“治疗(treat/treatment/treating)”是指用于部分或完全减轻、改善、缓和、抑制、预防特定疾病、病症和/或病状的一种或多种症状或特征、延迟其发作、减轻其严重性、和/或降低其发生率的任何方法。治疗可向不展现疾病的征象和/或仅展现所述疾病的早期征象的受试者施用以达成降低发展与所述疾病相关的病理学的风险的目的。

[0106] 某些实施方案的详细描述

[0107] 本发明尤其提供基于C1-INH作为蛋白质治疗剂，用于治疗包括遗传性血管性水肿(HAE)的补体介导的病症的方法和组合物。

[0108] 融合的目的旨在延长半衰期。结果是给药频率降低，防治性功效增加。

[0109] 本发明的各个方面详细描述于以下章节中。章节的使用不意图限制本发明。各章节可适用于本发明的任何方面。在本申请中，除非另外陈述，否则“或”的使用意指“和/或”。本文引用的所有技术的公开内容都以引用的方式整体并入本文。

[0110] C1-INH

[0111] 人C1-INH是一种具有广泛范围的抑制和非抑制生物活性的重要抗炎性血浆蛋白质。就序列同源性、它的C末端结构域的结构和蛋白酶抑制机理来说，它属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族（即最大类别的血浆蛋白酶抑制剂），其也包括抗凝血酶、 $\alpha 1$ -蛋白酶抑制剂、纤维蛋白溶酶原活化因子抑制剂和调控不同生理系统的许多其它结构类似蛋白质。C1-INH是补体系统、激肽产生接触系统和内在凝血途径中的蛋白酶的抑制剂。Cai, S.和Davis, A.E., Complement Regulatory Protein C1 Inhibitor Binds to Selectins and Interferes with Endothelial-Leukocyte Adhesion, J Immunol, 171:4786-4791 (2003)。具体来说，已显示C1-INH会抑制补体系统的C1r和C1s。C1-INH也是凝血因子XI和XII以及激肽释放酶和凝血和纤维蛋白溶解系统的其它丝氨酸蛋白酶（包括组织型纤维蛋白溶酶原活化因子和纤维蛋白溶酶）的主要调控剂。

[0112] C1-INH的血浆含量较低或它的功能异常导致活化补体级联与接触血浆级联两者,并且也可影响其它系统。已显示C1-INH血浆含量降低至低于55 μ g/mL(约为正常值的25%)的水平会诱导C1自发性活化。

[0113] 描绘C1-INH的结构示意图提供于图1A中。显示信号肽、N末端结构域和丝氨酸蛋白酶抑制剂结构域。22个氨基酸的信号肽为分泌所需,并且从C1-INH蛋白的其余部分裂解。C1-INH具有两个结构域:具有365个氨基酸,是典型丝氨酸蛋白酶抑制剂结构域的C末端结构域,和具有113个氨基酸的N末端结构域。蛋白质通过连接各结构域的两个二硫桥来稳定。这些二硫桥由N末端结构域的Cys101与C末端(丝氨酸蛋白酶抑制剂)结构域的Cys406形成二硫键,以及N末端结构域的Cys108与C末端结构域的Cys183形成二硫键来形成。丝氨酸蛋白酶抑制剂结构域负责C1-INH的蛋白酶活性。P1-P1'表示Arg444-Thr445易切断键。

[0114] 糖基化蛋白质的超过26%的重量是碳水化合物。聚糖不均匀分布在人C1-INH中。N末端被大量糖基化,具有三个N连接的(显示为具有菱形头部的长垂直线)和至少七个O连接的(显示为短垂直线)碳水化合物基团。三个N连接的聚糖连接于丝氨酸蛋白酶抑制剂结构域中的天冬酰胺残基Asn216、Asn231和Asn330(显示为具有菱形头部的长垂直线)。尽管格外长的且被大量糖基化的N末端结构域的功能性作用仍不明确,但它可能为蛋白质的构象稳定性、识别、对内毒素和选择素的亲和力、以及清除所必需。碳水化合物部分的内在异质性极大促成整个C1-INH的异质性,这是为何难以产生模拟血浆源性C1-INH的性质的重组C1-INH的一个原因。

[0115] 如本文所用,适于本发明的C1-INH融合蛋白包含保留基本上C1-INH生物活性的任何野生型和经修饰的C1-INH多肽(例如具有氨基酸突变、缺失、截短和/或插入的C1-INH蛋白)。通常,使用重组技术产生C1-INH融合蛋白。

[0116] 通常,合适的重组C1-INH融合蛋白具有是或大于约12小时、18小时、24小时、36小时、2天、2.5天、3天、3.5天、4天、4.5天、5天、5.5天、6天、6.5天、7天、7.5天、8天、8.5天、9天、9.5天或10天的体内半衰期。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白具有介于0.5与10天之间、介于1天与10天之间、介于1天与9天之间、介于1天与8天之间、介于1天与7天之间、介于1天与6天之间、介于1天与5天之间、介于1天与4天之间、介于1天与3天之间、介于2天与10天之间、介于2天与9天之间、介于2天与8天之间、介于2天与7天之间、介于2天与6天之间、介于2天与5天之间、介于2天与4天之间、介于2天与3天之间、介于2.5天与10天之间、介于2.5天与9天之间、介于2.5天与8天之间、介于2.5天与7天之间、介于2.5天与6天之间、介于2.5天与5天之间、介于2.5天与4天之间、介于3天与10天之间、介于3天与9天之间、介于3天与8天之间、介于3天与7天之间、介于3天与6天之间、介于3天与5天之间、介于3天与4天之间、介于3.5天与10天之间、介于3.5天与9天之间、介于3.5天与8天之间、介于3.5天与7天之间、介于3.5天与6天之间、介于3.5天与5天之间、介于3.5天与4天之间、介于4天与10天之间、介于4天与9天之间、介于4天与8天之间、介于4天与7天之间、介于4天与6天之间、介于4天与5天之间、介于4.5天与10天之间、介于4.5天与9天之间、介于4.5天与8天之间、介于4.5天与7天之间、介于4.5天与6天之间、介于4.5天与5天之间、介于5天与10天之间、介于5天与9天之间、介于5天与8天之间、介于5天与7天之间、介于5天与6天之间、介于5.5天与10天之间、介于5.5天与9天之间、介于5.5天与8天之间、介于5.5天与7天之间、介于5.5天与6天之间、介于6天与10天之间、介于7天与10天之间、介于8天与10天之间、介于9天与10天之间的体内半

衰期。

[0117] 通常,合适的重组C1-INH融合蛋白具有是或大于约4天、4.5天、5天、5.5天、6天、6.5天、7天、7.5天、8天、8.5天、9天、9.5天或10天的体内半衰期。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白具有介于4天与9天之间、介于4天与8天之间、介于4天与7天之间、介于4天与6天之间、介于4天与5天之间、介于4.5天与10天之间、介于4.5天与9天之间、介于4.5天与8天之间、介于4.5天与7天之间、介于4.5天与6天之间、介于4.5天与5天之间、介于5天与10天之间、介于5天与9天之间、介于5天与8天之间、介于5天与7天之间、介于5天与6天之间、介于5.5天与10天之间、介于5.5天与9天之间、介于5.5天与8天之间、介于5.5天与7天之间、介于5.5天与6天之间、介于6天与10天之间、介于7天与10天之间、介于8天与10天之间、介于9天与10天之间的体内半衰期。

[0118] 在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽包括与以下野生型人C1-INH蛋白(氨基酸1-478)(氨基酸1-97加下划线)具有至少50%(例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列:

[0119] NPNATSSSSQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNSTTNSATKITANTT
DEPTTQPTTEPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDA
 LVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTC
 VHQAALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTW
 VAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVP
 MNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIM
 EKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSVDLNLGLTEDPDLQVSAMQH
 QTVLELTETGVEAAAASAI SVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA
 (SEQ ID NO:1).

[0120] 在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽包括与以下野生型人C1-INH蛋白(氨基酸98-478)具有至少50%(例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列:

[0121] GSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDA LVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLT
 QVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQAALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNA
 SRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKW
 KTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVIL
 VPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIM EKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEF
 FDFSVDLNLGLTEDPDLQVSAMQH QTVLELTETGVEAAAASAI SVARTLLVFEVQQPF
 LFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:2).

[0122] 如本文所公开,SEQ ID NO:1代表人C1-INH蛋白的典型氨基酸序列。在一些实施方案中,C1-INH多肽可为截短的C1-INH,诸如SEQ ID NO:2。在一些实施方案中,合适的重组C1-INH多肽可为野生型或天然存在的蛋白质的同源物或类似物。举例来说,人野生型或天然存在的C1-INH多肽的同源物或类似物相较于野生型或天然存在的C1-INH蛋白(例如SEQ ID NO:1)可含有一个或多个氨基酸或结构域取代、缺失和/或插入,同时保留基本上C1-INH蛋白活性。因此,在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽与人C1-INH蛋白(SEQ ID NO:1)基本上同源。在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽具有与SEQ ID NO:1至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同源的氨基酸序列。在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽与人C1-INH蛋白(SEQ ID NO:1)基本上同一。在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽具有与SEQ ID NO:1至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、

85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一的氨基酸序列。

[0123] 人C1-INH蛋白的同源物或类似物可根据为本领域普通技术人员所知的用于改变多肽序列的方法制备,所述方法诸如见于汇编此类方法的参考文献中的方法。如将由本领域普通技术人员所了解,如果两个序列在相应位置中含有同源性残基,那么它们通常被视为“基本上同源”。同源性残基可为同一的残基。或者,同源性残基可为将具有适当类似结构和/或功能特征的非同一残基。举例来说,如本领域普通技术人员所熟知,某些氨基酸通常被分类为“疏水性”或“亲水性”氨基酸,和/或具有“极性”或“非极性”侧链。将一个氨基酸取代成相同类型的另一个氨基酸可常被视为“同源性”取代。在一些实施方案中,保守性氨基酸取代包括在以下组内的氨基酸之间进行的取代:(a)M、I、L、V;(b)F、Y、W;(c)K、R、H;(d)A、G;(e)S、T;(f)Q、N;和(g)E、D。在一些实施方案中,“保守性氨基酸取代”是指不改变其中进行氨基酸取代的蛋白质的相对电荷或尺寸特征的氨基酸取代。

[0124] 如本领域中所熟知,可使用多种算法中的任一种来比较氨基酸或核酸序列,所述算法包括商业计算机程序中可用的那些,诸如针对核苷酸序列的BLASTN以及针对氨基酸序列的BLASTP、空位BLAST和PSI-BLAST。示例性所述程序描述于Altschul等,Basic local alignment searchtool,J.Mol.Biol.,215(3):403-410,1990;Altschul等,Methods in Enzymology;Altschul等,“GappedBLAST andPSI-BLAST:anew generation ofprotein database searchprograms”,NucleicAcidsRes.25:3389-3402,1997;Baxevanis等,Bioinformatics:A Practical Guide to theAnalysis ofGenes andProteins,Wiley,1998;以及Misener等(编),Bioinformatics Methods and Protocols(Methods in Molecular Biology,第132卷),Humana Press,1999中。除鉴定同源性序列之外,以上提及的程序也通常提供对同源性程度的指示。

[0125] 在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽相较于野生型人C1-INH蛋白含有一个或多个氨基酸缺失、插入或替换。举例来说,合适的重组C1-INH多肽可为截短多肽,诸如具有SEQ ID NO:2的多肽。

[0126] 在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽包括与以下截短的野生型人C1-INH蛋白(氨基酸98-478)具有至少50%(例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%)同一性的氨基酸序列:

[0127] GSFCPGPVTLCSDLSEHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLT
QVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNA
SRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKW
KTTFDPKKTRMEPFHFKNVSVIKVPMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVIL
VPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEF
FDFSVDLNLCLTEDPDLQVSAMQHQTVELETTETGVEAAAASISVARTLLVFEVQQPF
LFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPA (SEQ ID NO:2).

[0128] 在一些实施方案中,C1-INH多肽可为截短的C1-INH,同时保留基本上C1-INH蛋白活性,诸如SEQ ID NO:2。因此,在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽与人C1-INH蛋白(SEQ ID NO:2)基本上同源。在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽具有与SEQ ID NO:2至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同源的氨基酸序列。在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽与人C1-INH蛋白(SEQ ID NO:2)基本上同一。在一些实施方案中,适于本发明的重组C1-INH多肽具有与SEQ ID NO:2具有至少50%、55%、60%、65%、

70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性的氨基酸序列。

[0129] 适于本发明的重组C1-INH融合蛋白可为C1-INH结构域与通常可通过例如增强或增加C1-INH蛋白的半衰期、稳定性、效能和/或递送,或降低或消除免疫原性、清除率或毒性来促进C1-INH的治疗作用的另一结构域或部分之间的融合蛋白。C1-INH融合蛋白的此类合适的结构域或部分包括但不限于Fc结构域和白蛋白结构域。

[0130] Fc结构域

[0131] 在一些实施方案中,合适的C1-INH融合蛋白含有Fc结构域或其结合FcRn受体的部分。作为一非限制性实例,合适的Fc结构域可源于诸如IgG的免疫球蛋白子类。在一些实施方案中,合适的Fc结构域源于IgG1、IgG2、IgG3或IgG4。在一些实施方案中,合适的Fc结构域源于IgM、IgA、IgD或IgE。特别合适的Fc结构域包括源于人抗体或人源化抗体的那些。在一些实施方案中,合适的Fc结构域是经修饰的Fc部分,诸如经修饰的人Fc部分。

[0132] A. IgG1

[0133] C1-抑制剂Fc融合蛋白可以二聚体形式存在,如图1A中所示。

[0134] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包括与以下野生型人IgG1 Fc结构域具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0135] DKHTTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID
NO:3).

[0136] i. LALA

[0137] 野生型IgG1具有低水平的补体级联活化,任何所述活化都可能不合乎罹患补体介导的病症的患者的需要。降低或消除补体活化和抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) 活性的效应物失效构建体的IgG选择可为重要的。合适的Fc结构域包括具有突变L234A和L235A (LALA) 的IgG1。

[0138] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包括与以下具有LALA突变的人IgG1 Fc结构域(突变残基加下划线) 具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0139] DKHTTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID
NO:4).

[0140] ii. NHance

[0141] 预期Fc结构域与FcRn受体之间的结合改进会导致血清半衰期延长。因此,在一些实施方案中,合适的Fc结构域包含一个或多个导致与FcRn的结合改进的氨基酸突变。Fc结构域内实现与FcRn的结合改进的各种突变在本领域中是已知的,并且可适合于实施本发明。在一些实施方案中,合适的Fc结构域包含一个或多个在一个或多个对应于人IgG1的Thr250、Met252、Ser254、Thr256、Thr 307、Glu380、Met428、His 433和/或Asn434的位置处

的突变。

[0142] 举例来说,合适的Fc结构域可含有突变H433K (His433Lys) 和/或N434F (Asn434Phe)。作为一非限制性实例,合适的Fc结构域可含有突变H433K (His433Lys) 和N434F (Asn434Phe) (Nhance)。可包括在Fc结构域中的额外氨基酸取代包括例如美国专利号6,277,375;8,012,476;和8,163,881中所述的那些,所述专利以引用的方式并入本文。

[0143] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包括与以下具有Nhance突变的人IgG1 Fc结构域(突变残基加下划线)具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0144] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID
NO:5).

[0145] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包括与以下具有LALA突变与Nhance突变两者的人IgG1 Fc结构域(突变残基加下划线)具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0146] DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID
NO:6).

[0147] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包括与以下具有信号肽,并且具有Nhance突变的人IgG1 Fc结构域(信号肽和突变残基加下划线)具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0148] METPAQLLFLLLLWLPDTTGDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC
VVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK
EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKFH
YTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:7).

[0149] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包括与以下具有信号肽,并且具有LALA突变与Nhance突变两者的人IgG1 Fc结构域(突变残基加下划线)具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0150] METPAQLLFLLLLWLPDTTGDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT
CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSD
IAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALKF
HYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:8).

[0151] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包括与以下野生型人IgG4 Fc结构域具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0152] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID
NO:9).

[0153] 在一些实施方案中,适于本发明的Fc结构域包括与以下具有S241P突变的人IgG4 Fc结构域(突变残基加下划线)具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0154] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLGK (SEQ ID
NO: 10).

[0155] 在一些实施方案中,合适的Fc结构域包含与SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、或SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、或SEQ ID NO:10具有至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同源或同一性的氨基酸序列。

[0156] B. IgG4

[0157] 在一些实施方案中,在HAE的情况下,“效应物失效”Fc融合蛋白的IgG4 IgG选择是重要的(消除补体活化和ADCC)。具体来说,据报道IgG4相比于野生型IgG1具有较低补体活化。表达天然IgG4会产生混合种类的构建体尺寸分级。因此,基于先前技术,由于由IgG4S241P突变体所展现的稳定性增加和二聚结构维持,所以选择IgG4S241P用于这个程序。

[0158] 根据本发明的人IgG4核心铰链区序列优选包含根据如按照Kabat的EU索引的S228P取代。根据Kabat等(1987 Sequences of proteins of immunological interest. United States Department of Health and Human Services, Washington DC.), 这个取代也已被称为S241P。该取代具有使得铰链区的核心的序列与野生型IgG1或IgG2同种型抗体的铰链区核心序列相同的作用。关于IgG4同种型抗体,它导致产生IgG4抗体的同源形式,并且因此消除常常导致产生异二聚IgG4抗体的重链解离和重新缔合。在一些实施方案中,IgG4对于在高浓度下的稳定性是优选的。

[0159] C. 示例性C1-INH融合蛋白

[0160] 在特定实施方案中,合适的重组C1-INH融合蛋白包括C1-INH多肽、Fc结构域,其中所述C1-INH多肽包含与野生型人C1-INH多肽(SEQ ID NO:1) 或截短的C1-INH多肽(SEQ ID NO:2) 具有至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中,存在使C1-INH多肽与Fc结构域缔合的接头。

[0161] 在一些实施方案中,合适的重组C1-INH融合蛋白具有在约0.5-10天(例如约0.5-5.5天、约0.5-5天、约1-5天、约1.5-5天、约1.5-4.5天、约1.5-4.0天、约1.5-3.5天、约1.5-3天、约1.5-2.5天、约2-6天、约2-5.5天、约2-5天、约2-4.5天、约2-4天、约2-3.5天、约2-3天) 的范围内的体内半衰期。在一些实施方案中,合适的重组C1-INH融合蛋白具有在约2-10天的范围内(例如在约2.5-10天、约3-10天、约3.5-10天、约4-10天、约4.5-10天、约5-10天、约

3-8天、约3.5-8天、约4-8天、约4.5-8天、约5-8天、约3-6天、约3.5-6天、约4-6天、约4.5-6天、约5-6天的范围内)的体内半衰期。

[0162] 通常,合适的重组C1-INH融合蛋白具有是或大于约12小时、18小时、24小时、36小时、2天、2.5天、3天、3.5天、4天、4.5天、5天、5.5天、6天、6.5天、7天、7.5天、8天、8.5天、9天、9.5天或10天的体内半衰期。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白具有介于0.5与10天之间、介于1天与10天之间、介于1天与9天之间、介于1天与8天之间、介于1天与7天之间、介于1天与6天之间、介于1天与5天之间、介于1天与4天之间、介于1天与3天之间、介于2天与10天之间、介于2天与9天之间、介于2天与8天之间、2天与7天之间、2天与6天之间、2天与5天之间、2天与4天之间、介于2天与3天之间、介于2.5天与10天之间、介于2.5天与9天之间、介于2.5天与8天之间、介于2.5天与7天之间、介于2.5天与6天之间、介于2.5天与5天之间、介于2.5天与4天之间、介于3天与10天之间、介于3天与9天之间、介于3天与8天之间、介于3天与7天之间、介于3天与6天之间、介于3天与5天之间、介于3天与4天之间、介于3.5天与10天之间、介于3.5天与9天之间、介于3.5天与8天之间、介于3.5天与7天之间、介于3.5天与6天之间、介于3.5天与5天之间、介于3.5天与4天之间、介于4天与10天之间、介于4天与9天之间、介于4天与8天之间、介于4天与7天之间、介于4天与6天之间、介于4天与5天之间、介于4.5天与10天之间、介于4.5天与9天之间、介于4.5天与8天之间、介于4.5天与7天之间、介于4.5天与6天之间、介于4.5天与5天之间、介于5天与10天之间、介于5天与9天之间、介于5天与8天之间、介于5天与7天之间、介于5天与6天之间、介于5.5天与10天之间、介于5.5天与9天之间、介于5.5天与8天之间、介于5.5天与7天之间、介于5.5天与6天之间、介于6天与10天之间、介于7天与10天之间、介于8天与10天之间、介于9天与10天之间的体内半衰期。

[0163] 在某些实施方案中,如图2A和图2B中所示,Fc部分可直接融合于全长(1-478个氨基酸)以及截短(98-478)的C1-抑制剂的N末端区域。作为非限制性实例,合适的C1-INH Fc融合蛋白可具有以下显示的氨基酸序列:

[0164] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKNPNATSSS
SQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNTTNSATKITANTTDEPTTQPTT
EPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKL
YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
FTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
KISRLDLSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPKKTRMEPFHFKNVSVIKVPMMNSSKKYP
VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
FQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLNLCLGLTEDPDLQVSAMQHQTVLELT
ETGVEAAAAAISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID
NO:11)

[0165] 或

- [0166] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSFCGP
VTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGA
GENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSS
SPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFDPK
KTRMEPFHFKNVSVIKVPMMNNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKH
RLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSIDL
NLCGLTEDPDLQVSAMQHQTIVLELTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWD
QQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:12)
- [0167] 或
- [0168] DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKNPNATSSS
SQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNTTNSATKITANTTDEPTTQPTT
EPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKL
YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
FTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
KISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFDPKKTRMEPFHFKNVSVIKVPMMNNSKKYP
VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
FQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSIDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTIVLELT
ETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID
NO:13)
- [0169] 或
- [0170] DKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSFCGP
VTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGA
GENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSS
SPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFDPK
KTRMEPFHFKNVSVIKVPMMNNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKH
RLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSIDL
NLCGLTEDPDLQVSAMQHQTIVLELTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWD
QQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:14)
- [0171] 或
- [0172] ESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGKNPNATSSS
SQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNTTNSATKITANTTDEPTTQPTT
EPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKL
YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
FTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
KISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFDPKKTRMEPFHFKNVSVIKVPMMNNSKKYP
VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
FQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSIDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTIVLELT
ETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID
NO:32)
- [0173] 或

[0174] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGKGSFCPGPV
TLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAG
ENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDFTFVNASRTLYSSS
PRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKK
TRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHR
LEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLN
LCGLTEDPDLQVSAMQHQTVELETTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQ
QHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:33)

[0175] 或

[0176] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGKNPNATSSS
SQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNTSTNSATKITANTTDEPTTQPTT
EPTTQPTIQTPTTQLPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSLESHSTEAVLGDALVDFSLKL
YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
FTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDFTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
KISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYP
VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHLLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
FQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTVELETT
ETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID
NO:15)

[0177] 或

[0178] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLGKGSFCPGPV
TLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAG
ENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDFTFVNASRTLYSSS
PRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKK
TRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHR
LEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLN
LCGLTEDPDLQVSAMQHQTVELETTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQ
QHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:16).

[0179] 在一些实施方案中,合适的重组C1-INH Fc融合蛋白具有与SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:33具有至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同源性或同一性的氨基酸序列。

[0180] 预期C1-INH-Fc融合蛋白可以各种构型提供,包括同二聚构型或单体构型。举例来说,合适的同二聚构型可被设计以使融合配偶体(例如C1-INH多肽加接头)的C末端连接于两个Fc多肽链的N末端。合适的单体构型可被设计以使融合配偶体(例如C1-INH多肽加接头)的C末端融合于一个Fc二聚体。

[0181] 对于某些应用和施用途径例如皮下施用,单体(在本文中也称为单价)形式可为优选的。单体构型可降低空间位阻,增加半衰期,和/或可增加生物利用度。

[0182] 对于C1-INH Fc融合构建体,单价形式也可为优选的,因为C1-INH是自杀性抑制剂。因为它是自杀性抑制剂,所以二聚体Fc融合物的一个C1-INH“臂”的结合将导致结合的

C1-INH融合蛋白的清除率增加,即使在第二臂仍然未结合的情况下。

[0183] 单体Fc融合蛋白与二聚Fc融合蛋白两者的优势是发现相比于单独C1-INH的表达,在Fc情况下的表达在较高水平下发生。已显示比较二聚C1-INH Fc构建体与重组C1-INH的活性测定具有类似C1q结合活性。也测试包括接头,并且发现不影响Fc-C1-INH融合蛋白结合它的靶标的能力。

[0184] 制备单体抗体融合蛋白的方法包括例如PCT公布号W02011/063348;W02012/020096;W02013/138643;W02014087299;Dumont,J.等,Monomeric Fc Fusions:Impact on Pharmacokinetic and Biological Activity of Protein Therapeutics,Biodrugs,20(3):151-160(2006);Ishino,T.等,Protein Structure and Folding:Half-life Extension of Biotherapeutics Modality by N-Glycosylation for the Engineering a Monomeric Fc Domain,J.Biol.Chem.,288:16529-16537(2013)中所述的那些,所述专利和参考文献的公开内容以引用的方式并入本文。

[0185] 可通过使用与表达单独Fc的质粒共同转染的含有Fc-C1的质粒来制备单价C1-抑制剂。此外,它可通过使用双启动子质粒来制备,其中一个启动子产生Fc-C1,而另一启动子产生单独Fc。也可使用双特异性技术制备单价Fc,其中使Fc的铰链区中的特定氨基酸突变以赋予Fc区的稳定性(例如钮和孔(Knob and hole)技术或驱使形成单价C1的其它稳定化突变)。

[0186] 如本文所用,关于本文标识的参照蛋白质序列(例如参照C1-INH蛋白质序列)的“氨基酸序列同一性百分比(%)”定义为在比对序列,以及必要时引入空位以实现最大序列同一性百分比,并且不将任何保守性取代考虑为序列同一性的一部分之后,候选序列中与参照序列中的氨基酸残基同一的氨基酸残基的百分比。出于确定氨基酸序列同一性百分比的目的的比对可以本领域技能内的各种方式实现,例如使用可公开获得的计算机软件诸如BLAST、ALIGN或Megalign(DNASTAR)软件。本领域技术人员可确定用于测量比对的适当参数,包括为在所比较序列的全长上实现最大对准所需的任何算法。优选地,WU-BLAST-2软件用于确定氨基酸序列同一性(Altschul等,Methods in Enzymology 266,460-480(1996);<http://blast.wustl.edu/blast/README.html>)。WU-BLAST-2使用若干搜索参数,其中大多数被设置成缺省值。可调整参数设为以下值:重叠间距=1,重叠分数=0.125,字阈值(worldthreshold)(T)=11。HSP评分(S)和HSP S2参数是动态值,并且由程序自身视特定序列的组成来确定,然而,最小值可被调整,并且如上所指示加以设置。

[0187] 白蛋白结构域

[0188] 白蛋白是一种占血清蛋白质的约一半的可溶性单体蛋白质。白蛋白主要充当类固醇、脂肪酸和甲状腺激素的载体蛋白,并且在使细胞外液体积稳定方面起作用。白蛋白表现为分子量是66,500的球状未糖基化的血清蛋白质。白蛋白在肝中以具有N末端肽的前白蛋白原(preproalbumin)形式合成,所述N末端肽在初生蛋白质从糙面内质网释放之前被移除。产物白蛋白原转而在高尔基小泡(Golgi vesicle)中被裂解以产生分泌白蛋白。

[0189] 白蛋白由三个同源性结构域(I-III)组成,并且这些结构域各自包含两个子结构域(A和B)。人血清白蛋白的主要配体结合区域位于子结构域IIA和IIIA中的空腔中,所述空腔主要由疏水性和带正电荷残基形成,并且展现类似化学性质。人血清白蛋白具有585个氨基酸和66,500Da的分子质量。氨基酸包括35个半胱氨酸,其中除一个之外全都涉及于17个

稳定化二硫键的形成中。

[0190] 白蛋白具有19天的延长血清半衰期。FcRn控制白蛋白的长久血清半衰期。FcRn是一种双重结合受体,其除白蛋白之外也结合IgG,并且保护两种蛋白质免遭细胞内降解。已显示白蛋白分子的C末端结构域对于与FcRn的结合至关重要。缺乏结构域IIIB或突变464His、510His和535His几乎完全消除FcRn结合。

[0191] 本发明的白蛋白融合蛋白是单体。在一些实施方案中,由于以上关于单体Fc融合物实施方案所述的原因,所以这个特征可为与二聚Fc融合物实施方案相比的优势。

[0192] 在一些实施方案中,适于本发明的白蛋白多肽包括与以下野生型人血清白蛋白具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0193] MKWVTFISLLFLFSSAYSRGVFRDDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLVEVTEFAKTCVADESAENCDSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK
QEPERNECFLQHKDDNPPLRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP
ELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAAACLLPKLDELDEGKASSAKQRLKCSLQKFGERA
FKAWAVARLSQRFPAEFAEVSKLVTDLTQVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQ
DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL
GMFLYFYARRHPDYSVVLRLAKTYKTTLKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
NLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAK
RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN
AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKA
DDKETCFAEEGKKLVAASRAALGL (SEQ ID NO:17).

[0194] 在一些实施方案中,适于本发明的白蛋白多肽包括与以下野生型人血清白蛋白的D3结构域具有至少50% (例如至少55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%) 同一性的氨基酸序列:

[0195] METPAQLLFLLLLWLPDTTGVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS
TPTLVEVSRNLGKVGSKCKKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC
TESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKP
KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKADDKETCFAEEGKKLVAASRAALGL (SEQ ID
NO:20).

[0196] 接头或间隔体

[0197] C1-INH结构域可直接或间接连接于Fc结构域或白蛋白结构域。在一些实施方案中,合适的重组C1-INH融合蛋白含有接合C1-INH多肽和Fc结构域的接头或间隔体。在一些实施方案中,合适的重组C1-INH融合蛋白含有接合C1-INH多肽和白蛋白多肽的接头或间隔体。氨基酸接头或间隔体通常被设计以具有可挠性或插入两个蛋白质部分之间的结构诸如 α -螺旋。接头或间隔体可相对较短,或可较长。通常,在长度方面,接头或间隔体含有例如3-100 (例如5-100、10-100、20-100、30-100、40-100、50-100、60-100、70-100、80-100、90-100、5-55、10-50、10-45、10-40、10-35、10-30、10-25、10-20) 个氨基酸。在一些实施方案中,在长度方面,接头或间隔体等于或长于2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100个氨基酸。通常,较长接头可降低空间位阻。在一些实施方案中,接头将包含甘氨酸和丝氨酸残基的混合物。在一些实施方案中,接头可另外包含苏氨酸、脯氨酸和/或丙氨酸残基。因此,在一些实施方案中,接头包含10-100、10-90、10-80、10-70、10-60、10-50、10-40、10-30、10-20、10-15个之间的氨基酸。在一些实施方案中,接头包含至少10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90或95个氨基酸。在一些实

施方案中,接头不是由ALEVLFFQGP组成的接头。

[0198] 作为非限制性实例,适于本发明的接头或间隔体包括但不限于GGG接头和GGGSGGGGS((GGGS)2接头SEQ ID NO:27)。在一些实施方案中,接头包含序列GGG和/或序列SEQ ID NO:27。

[0199] 其它合适的接头包括GAPGGGGGAAAAAGGGGGGAP(GAG接头,SEQ ID NO:34);GAPGGGGGAAAAAGGGGGGAPGGGGGAAAAAGGGGGGAP(GAG2接头,SEQ ID NO:35);和GAPGGGGGAAAAAGGGGGGAPGGGGGAAAAAGGGGGGAPGGGGGAAAAAGGGGGGAP(GAG3接头,SEQ ID NO:36)。

[0200] 合适的接头或间隔体也包括具有与以上示例性接头例如GGG接头、GGGSGGGGS((GGGS)2接头SEQ ID NO:27)、GAG接头(SEQ ID NO:34)、GAG2接头(SEQ ID NO:35)或GAG3接头(SEQ ID NO:36)具有至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同源性或同一性的氨基酸序列的那些。适于与一些实施方案一起使用的额外接头可见于2012年3月2日提交的US2012/0232021中,所述专利的公开内容据此以引用的方式整体并入本文。

[0201] 在一些实施方案中,提供使C1-INH多肽与白蛋白结构域缔合,而不实质上影响C1-INH多肽结合它的任何同源配体(例如C1s等)的能力的接头。在一些实施方案中,提供接头以使相较于单独C1-INH多肽,C1-INH肽与它的一种或多种同源配体的结合不改变。在一些实施方案中,提供接头以使相较于单独C1-INH多肽,C1-INH肽与它的一种或多种同源配体的结合不降低或减小。

[0202] 产生重组C1-INH融合蛋白

[0203] 适于本发明的重组C1-INH融合蛋白可通过任何可用手段来产生。举例来说,可通过利用被工程改造以表达重组C1-INH融合蛋白编码核酸的宿主细胞系统来重组产生重组C1-INH融合蛋白。或者或另外,可通过使内源性基因活化来产生重组C1-INH融合蛋白。或者或另外,重组C1-INH融合蛋白可部分或完全通过化学合成来制备。

[0204] 当重组产生蛋白质时,可使用任何表达系统。仅举几例来说,已知表达系统包括例如大肠杆菌(E.coli)、卵、杆状病毒、植物、酵母或哺乳动物细胞。

[0205] 在一些实施方案中,在哺乳动物细胞中产生适于本发明的重组C1-INH融合蛋白。可根据本发明使用的哺乳动物细胞的非限制性实例包括BALB/c小鼠骨髓瘤株系(NS0/1, ECACC编号:85110503);人视网膜母细胞(PER.C6,CruCell,Leiden,The Netherlands);由SV40转化的猴肾CV1株系(COS-7,ATCC CRL 1651);人胚肾株系(被亚克隆以悬浮培养生长的HEK293或293细胞,Graham等,J.Gen.Virol.,36:59,1977);人纤维肉瘤细胞系(例如HT1080);幼小仓鼠肾细胞(BHK21,ATCC CCL 10);中国仓鼠卵巢细胞+/-DHFR(CHO,Urlaub和Chasin,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,77:4216,1980);小鼠塞尔托利细胞(sertoli cell)(TM4,Mather,Biol.Reprod.,23:243-251,1980);猴肾细胞(CV1 ATCC CCL 70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76,ATCC CRL-1587);人宫颈癌细胞(HeLa,ATCC CCL 2);犬肾细胞(MDCK, ATCC CCL 34);水牛大鼠肝细胞(BRL 3A,ATCC CRL 1442);人肺细胞(W138,ATCC CCL 75);人肝细胞(Hep G2,HB 8065);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562,ATCC CCL51);TRI细胞(Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.,383:44-68,1982);MRC 5细胞;FS4细胞;和人肝细胞瘤株系(Hep G2)。

[0206] 在一些实施方案中,本发明提供由人细胞产生的重组C1-INH融合蛋白。在一些实

施方案中,本发明提供由CHO细胞或HT1080细胞产生的重组C1-INH融合蛋白。

[0207] 通常,被工程改造以表达重组C1-INH融合蛋白的细胞可包含编码本文所述的重组C1-INH融合蛋白的转基因。应了解编码重组C1-INH融合蛋白的核酸可含有调控序列、基因控制序列、启动子、非编码序列和/或用于表达重组C1-INH融合蛋白的其它适当序列。通常,使编码区可操作地与这些核酸组分中的一个或多个连接。

[0208] 转基因的编码区可包括一个或多个沉默突变以针对特定细胞类型优化密码子使用。举例来说,可针对在脊椎动物细胞中表达来优化C1-INH融合物转基因的密码子。在一些实施方案中,可针对在哺乳动物细胞中表达来优化C1-INH融合物转基因的密码子。在一些实施方案中,可针对在人细胞中表达来优化C1-INH融合物转基因的密码子。在一些实施方案中,可针对在CHO细胞中表达来优化C1-INH融合物转基因的密码子。

[0209] 编码C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的核酸

[0210] 在一些实施方案中,提供包含编码重组目标基因(在本文中被称为转基因)诸如本文各种实施方案中所述的C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的核酸序列的核酸分子。在一些实施方案中,编码转基因的核酸可被修饰以提供所编码C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的表达增加,此也被称为密码子优化。举例来说,可通过改变编码序列的开放阅读框来修饰编码转基因的核酸。如本文所用,术语“开放阅读框”与“ORF”同义,并且意指潜在能够编码蛋白质或蛋白质的一部分的任何核苷酸序列。开放阅读框通常以起始密码子(在标准密码的情况下表示为例如RNA分子的AUG和DNA分子的ATG)开始,并且以密码子三联体进行读取直至具有终止密码子(在标准密码的情况下表示为例如RNA分子的UAA、UGA或UAG和DNA分子的TAA、TGA或TAG)的框架末端。如本文所用,术语“密码子”意指核酸分子中的三核苷酸序列,其在蛋白质合成期间指定特定氨基酸;也称为三联体或密码子三联体。举例来说,在标准遗传密码的情况下的64个可能密码子之中,两个密码子GAA和GAG编码氨基酸谷氨酰胺,而密码子AAA和AAG指定氨基酸赖氨酸。在标准遗传密码的情况下,三个密码子是终止密码子,其不指定氨基酸。如本文所用,术语“同义密码子”意指编码单一氨基酸的任何和所有密码子。除甲硫氨酸和色氨酸之外,氨基酸由两至六个同义密码子编码。举例来说,在标准遗传密码的情况下,编码氨基酸丙氨酸的四个同义密码子是GCA、GCC、GCG和GCU,指定谷氨酰胺的两个同义密码子是GAA和GAG,并且编码赖氨酸的两个同义密码子是AAA和AAG。

[0211] 在一些实施方案中,可使用标准密码子优化方法修饰编码C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的开放阅读框的核酸。用于密码子优化的各种商业算法是可用的,并且可用于实施本发明。通常,密码子优化不改变编码的氨基酸序列。在一些实施方案中,密码子优化可导致氨基酸改变诸如取代、缺失或插入。通常,此类氨基酸改变不实质上改变蛋白质活性。

[0212] 示例性核酸序列编码具有与SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:32或SEQ ID NO:33具有至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多同一性或同源性的氨基酸序列的C1-抑制剂Fc融合蛋白和C1-抑制剂白蛋白融

合蛋白。

[0213] 在一些实施方案中,核苷酸变化可改变开放阅读框内的同义密码子以与见于被选择来表达C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的特定异源性细胞中的内源性密码子使用一致。或者或另外,核苷酸变化可改变开放阅读框内的G+C含量以更好匹配见于异源性宿主细胞中存在的内源性核酸序列中的开放阅读框的平均G+C含量。核苷酸变化也可改变见于C1-抑制剂Fc融合蛋白或C1-抑制剂白蛋白融合物序列内的多聚单核苷酸区域或内部调控或结构位点。因此,设想多种经修饰或经优化的核苷酸序列,包括但不限于提供C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白在原核细胞;酵母细胞;昆虫细胞中;以及在哺乳动物细胞中的表达增加的核酸序列。

[0214] 通常,经修饰的核酸编码具有或不具有氨基酸序列改变的C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白。在存在氨基酸改变的情况下,此类改变通常不实质上降低C1-抑制剂Fc融合蛋白或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白活性。在一些实施方案中,此类改变增加和/或增强C1-抑制剂Fc融合蛋白或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白活性。活性可指以下非限制性参数清单:半衰期增加、由宿主细胞达成的蛋白质表达增加/升高、所表达蛋白质的稳定性增加、所表达蛋白质的溶解性增加、所表达蛋白质的聚集降低、所表达蛋白质的配制更简单、所表达蛋白质的纯化更简单、所表达蛋白质对pH变化的耐受性增加、蛋白质耐受高pH和低pH条件的能力增加、所表达蛋白质适于在高浓度下配制。

[0215] 表达载体

[0216] 可将编码如本申请中所述的C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的核酸序列分子克隆(插入)至适合载体中以便在宿主细胞中增殖或表达。广泛多种表达载体可用于实施本发明,包括但不限于原核表达载体;酵母表达载体;昆虫表达载体和哺乳动物表达载体。适于本发明的示例性载体包括但不限于基于病毒的载体(例如基于AAV的载体、基于逆转录病毒的载体、基于质粒的载体)。在一些实施方案中,可将编码C1-抑制剂Fc融合蛋白的核酸序列插入合适的载体中。在一些实施方案中,可将编码C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的核酸序列插入合适的载体中。通常,使编码C1-抑制剂Fc融合蛋白或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的核酸可操作地连接于各种调控序列或元件。

[0217] 调控序列或元件

[0218] 可将各种调控序列或元件并入适于本发明的表达载体中。示例性调控序列或元件包括但不限于启动子、增强子、阻遏子或抑制子、5' 未翻译(或非编码)序列、内含子、3' 未翻译(或非编码)序列。

[0219] 如本文所用,“启动子”或“启动子序列”是能够结合(例如直接或通过其它启动子结合的蛋白质或物质)细胞中的RNA聚合酶,并且启动编码序列的转录的DNA调控区。一般来说,启动子序列在它的3' 末端由转录起始位点结合,并且在上游(5' 方向)延伸以包括为在任何水平上启动转录所必需的最小数目的碱基或元件。可使启动子可操作地与以下各物缔合或可操作地连接于以下各物:表达控制序列(包括增强子和阻遏子序列)或待表达的核酸。在一些实施方案中,启动子可为诱导型启动子。在一些实施方案中,诱导型启动子可为单向或双向(bio-directional)启动子。在一些实施方案中,启动子可为组成型启动子。在一些实施方案中,启动子可为杂合启动子,其中含有转录调控区的序列从一个来源获得,并且含有转录起始区的序列从第二来源获得。用于使控制元件连接于转基因内的编码序列的

系统在本领域中是熟知的(一般性分子生物和重组DNA技术描述于Sambrook,Fritsch和Maniatis,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,第2版,Cold Spring HarborLaboratoryPress,Cold Spring Harbor,NY,1989中,所述书籍以引用的方式并入本文)。适于插入转基因以在各种宿主细胞中在多种生长和诱导条件下表达的商业载体在本领域中也是熟知的。

[0220] 在一些实施方案中,特异性启动子可用于控制转基因在哺乳动物宿主细胞中的表达,诸如但不限于SR α 启动子(Takebe等,Molec.and Cell.Bio.8:466-472(1988))、人CMV立即早期启动子(Boshart等,Cell41:521-530(1985);Foecking等,Gene 45:101-105(1986))、人CMV启动子、人CMV5启动子、鼠类CMV立即早期启动子、EF1- α -启动子、用于肝特异性表达的杂合CMV启动子(例如通过使CMV立即早期启动子与人 α -1-抗胰蛋白酶(HAT)或白蛋白(HAL)启动子的转录启动子元件缀合来制备)、或用于肝细胞瘤特异性表达的启动子(例如其中使人白蛋白的转录启动子元件(HAL;约1000bp)或人 α -1-抗胰蛋白酶的转录启动子元件(HAT,约2000bp)与人 α -1-微球蛋白和尿抑胰酶素(bikunin)前体基因(AMBP)的145长度的增强子元件组合;HAL-AMBP和HAT-AMBP);SV40早期启动子区域(Benoist等,Nature290:304-310(1981))、黄杉毒蛾(*Orgyia pseudotsugata*)立即早期启动子、疱疹胸苷激酶启动子(Wagner等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA78:1441-1445(1981));或金属硫蛋白基因的调控序列(Brinster等,Nature 296:39-42(1982))。在一些实施方案中,哺乳动物启动子是组成型启动子,诸如但不限于次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶(HPTR)启动子、腺苷脱氨酶启动子、丙酮酸激酶启动子、 β -肌动蛋白启动子以及为本领域普通技术人员所知的其它组成型启动子。

[0221] 在一些实施方案中,特异性启动子可用于控制转基因在原核宿主细胞中的表达,诸如但不限于 β -内酰胺酶启动子(Villa-Komaroff等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 75:3727-3731(1978));tac启动子(DeBoer等,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 80:21-25(1983));T7启动子、T3启动子、M13启动子或M16启动子;控制转基因在酵母宿主细胞中的表达,诸如但不限于GAL1、GAL4或GAL10启动子、ADH(醇脱氢酶)启动子、PGK(磷酸甘油激酶)启动子、碱性磷酸酶启动子、甘油醛-3-磷酸脱氢酶III(TDH3)启动子、甘油醛-3-磷酸脱氢酶II(TDH2)启动子、甘油醛-3-磷酸脱氢酶I(TDH1)启动子、丙酮酸激酶(PYK)启动子、烯醇酶(ENO)启动子或磷酸丙糖异构酶(TPI)启动子。

[0222] 在一些实施方案中,启动子可为病毒启动子,其中许多能够调控转基因在包括哺乳动物细胞的若干宿主细胞类型中的表达。已显示会驱动编码序列在真核细胞中组成型表达的病毒启动子包括例如猿猴病毒启动子、单纯疱疹病毒启动子、乳头状瘤病毒启动子、腺病毒启动子、人免疫缺陷病毒(HIV)启动子、劳斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus)启动子、巨细胞病毒(CMV)启动子、莫洛尼(Moloney)鼠类白血病毒和其它逆转录病毒的长末端重复序列(LTR)、单纯疱疹病毒的胸苷激酶启动子以及为本领域普通技术人员所知的其它病毒启动子。

[0223] 在一些实施方案中,表达载体的基因控制元件也可包括分别涉及启动转录和翻译的5'非转录序列和5'非翻译序列,诸如TATA框、加帽序列、CAAT序列、Kozak序列等。增强子元件可任选用于增加待表达的多肽或蛋白质的表达水平。已显示会在哺乳动物细胞中起作用的增强子元件的实例包括如Dijkema等,EMBO J.(1985)4:761中所述的SV40早期基因增

强子以及源于劳斯肉瘤病毒(RSV)的长末端重复序列(LTR)(如Gorman等, Proc.Natl.Acad.Sci.USA (1982b) 79:6777中所述)和人巨细胞病毒(如Boshart等, Cell (1985) 41:521中所述)的增强子/启动子。表达载体的遗传控制元件也将包括涉及终止转录和翻译的3'非转录序列和3'非翻译序列。分别来说,诸如用于稳定化和加工从启动子转录的mRNA的3'末端的多聚腺苷酸化(polyA)信号。Poly A信号包括例如兔 β 球蛋白polyA信号、牛生长激素polyA信号、鸡 β 球蛋白终止子/polyA信号或SV40晚期polyA区域。

[0224] 可选择标记

[0225] 表达载体将优选但任选包括至少一种可选择标记。在一些实施方案中,可选择标记是编码可操作地连接于一种或多种遗传调控元件,以给予宿主细胞在细胞毒性化学物质和/或药物存在下生长时维持活力的能力的抗性基因的核酸序列。在一些实施方案中,可选择剂可用于维持表达载体保留在宿主细胞内。在一些实施方案中,可选择剂可用于防止表达载体内的转基因序列的修饰(即甲基化)和/或沉默。在一些实施方案中,可选择剂用于维持载体在宿主细胞内游离型表达。在一些实施方案中,可选择剂用于促进转基因序列稳定整合至宿主细胞基因组中。在一些实施方案中,试剂和/或抗性基因可包括但不限于用于真核宿主细胞的甲氨蝶呤(MTX)、二氢叶酸还原酶(DHFR,美国专利号4,399,216;4,634,665;4,656,134;4,956,288;5,149,636;5,179,017)、氨苄青霉素、新霉素(G418)、博来霉素(zeomycin)、霉酚酸或谷氨酰胺合成酶(GS,美国专利号5,122,464;5,770,359;5,827,739);用于原核宿主细胞的四环素、氨苄青霉素、卡那霉素或氯霉素;和用于酵母宿主细胞的URA3、LEU2、HIS3、LYS2、HIS4、ADE8、CUP1或TRP1。

[0226] 可将表达载体转染、转化或转导至宿主细胞中。如本文所用,术语“转染”、“转化”和“转导”全都是指将外源性核酸序列引入宿主细胞中。在一些实施方案中,将含有编码C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的核酸序列的表达载体同时转染、转化或转导至宿主细胞中。在一些实施方案中,将含有编码C1-抑制剂Fc融合蛋白和/或C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的核酸序列的表达载体依序转染、转化或转导至宿主细胞中。举例来说,可首先将编码C1-抑制剂融合蛋白的载体转染、转化或转导至宿主细胞中,随后转染、转化或转导编码一种或多种优选通过增加唾液酸化来增强所表达C1-抑制剂融合蛋白的糖基化的蛋白质的载体,并且反之亦然。

[0227] 本领域中熟知的转化、转染和转导方法的实例包括脂质体递送即Hawley-Nelson, Focus 15:73(1193)的lipofectamineTM(Gibco BRL)方法、电穿孔、Graham和van der Erb, Virology, 52:456-457 (1978)的CaPO₄递送方法、DEAE-右旋糖苷介导的递送、显微注射、基因枪粒子递送、聚凝胺介导的递送、阳离子介导的脂质递送、转导和病毒性感染,诸如像逆转录病毒、慢病毒、腺病毒腺相关病毒和杆状病毒(昆虫细胞)。细胞宿主转化的一般性方面已在本领域中加以描述,诸如由Axel在美国专利号4,399,216中描述;Sambrook(上文),第1-4和16-18章;Ausubel(上文),第1、9、13、15和16章。对于用于转化哺乳动物细胞的各种技术,参见Keown等, Methods in Enzymology (1989), Keown等, Methods in Enzymology, 185: 527-537 (1990), 以及Mansour等, Nature, 336:348-352 (1988)。

[0228] 一旦引入细胞内部,表达载体即可稳定整合在基因组中,或以染色体外构建体形式存在。载体也可被扩增,并且多个拷贝可存在或整合于基因组中。在一些实施方案中,本发明的细胞可含有编码C1-抑制剂融合蛋白的核酸的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20个或更

多个拷贝。在一些实施方案中,本发明的细胞可含有编码C1-抑制剂融合蛋白的核酸的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20个或更多个拷贝。在一些实施方案中,本发明的细胞可含有编码C1-抑制剂Fc融合蛋白与一种或多种优选通过增加唾液酸化来增强所表达C1-抑制剂融合蛋白的糖基化的蛋白质两者的核酸的多个拷贝(例如2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20个或更多个)。也可通过本文所述的各种方法来操纵唾液酸化。在不希望受任何理论束缚下,发现唾液酸化降低与所公开构建体的肝素结合增加,由此阻止C1-INH结合位点结合靶标相关联。肝素结合也增加内化至溶酶体中,由此使清除率增加的可能性。

[0229] 宿主细胞

[0230] 如本文所用,术语“宿主细胞”是指可用于产生重组C1-抑制剂融合蛋白的细胞。具体而言,宿主细胞适于在大规模上产生重组C1-抑制剂融合蛋白。合适的宿主细胞可源于多种生物体,包括但不限于哺乳动物、植物、鸟(例如禽类系统)、昆虫、酵母和细菌。在一些实施方案中,宿主细胞是哺乳动物细胞。在一些实施方案中,合适的宿主细胞被工程改造以改进所表达重组C1-抑制剂融合蛋白的糖基化特征。在本发明的一些实施方案中,C1-INH多肽与天然血浆源性C1-INH的类似部分具有相同或类似糖基化特征。在一些实施方案中,C1-INH多肽与天然血浆源性C1-INH具有至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%等同聚糖。在一些实施方案中,C1-INH融合蛋白的糖基化特征具有人源化糖基化特征。在一些实施方案中,相较于天然血浆源性C1-INH,C1-INH融合蛋白具有增加的唾液酸化。

[0231] 改进糖基化特征可指使唾液酸化增加和/或使糖基化特征人源化,例如在经工程改造细胞中表达包含C1-INH多肽的重组C1-抑制剂融合蛋白,由此产生相比于在非工程改造细胞中表达的C1-INH多肽,更类似于天然人C1-INH的糖基化特征。改进也可指相较于Ruconest,使C1-INH融合物的糖基化特征增加、增强和/或优化。

[0232] 改变、控制、操纵、改进、增强和/或优化蛋白质的糖基化特征的各种方法在本领域中是已知的。可被优化的糖基化特征表征包括聚糖残基的数目、聚糖残基连接位置、聚糖连接方式(例如键的类型)、聚糖连接过程、和连接于蛋白质或多肽的聚糖残基的身份。本发明的融合蛋白的任何部分的糖基化特征都被预期作为适于糖基化优化的目标。本发明的融合蛋白的可针对糖基化加以优化的部分包括但不限于本文公开的C1-INH多肽、Fc结构域、白蛋白多肽和/或接头。涵盖控制糖基化特征的这些方法,以及熟练人士将鉴于本公开而理解为在优化本发明的融合蛋白的糖基化方面具有效用的尚有待于发现的其它方法。改变、控制、操纵、改进、增强和/或优化本发明的C1-INH蛋白和多肽的糖基化特征的方法包括体外、原位和体内方法。

[0233] 在一些实施方案中,通过翻译后和/或化学修饰所表达蛋白质或多肽来改变所表达蛋白质或多肽的糖基化特征。

[0234] 在一些实施方案中,相较于尚未经受翻译后和/或化学修饰,具有相同序列的C1-INH融合蛋白,已经受所述翻译后和/或化学修饰的C1-INH融合蛋白具有改变、改进、增强、人源化和/或优化的糖基化特征。在一些实施方案中,相较于尚未经受翻译后和/或化学修饰,具有相同序列的C1-INH融合蛋白,已经受所述翻译后和/或化学修饰的C1-INH融合蛋白具有改变、改进、增强、人源化和/或优化的唾液酸化特征。

[0235] 在一些实施方案中,相较于由尚未被工程改造以增强糖基化的相同细胞系表达,

具有相同序列的C1-INH融合蛋白,由被工程改造以增强糖基化的细胞系表达的C1-INH融合蛋白具有改变、改进、增强、人源化和/或优化的糖基化特征。在一些实施方案中,相较于由尚未被工程改造以增强唾液酸化的相同细胞系表达,具有相同序列的C1-INH融合蛋白,由被工程改造以增强唾液酸化的细胞系表达的C1-INH融合蛋白具有改变、改进、增强、人源化和/或优化的唾液酸化特征。

[0236] 在一些实施方案中,相较于由在各种条件下培养以增强糖基化的细胞系表达,具有相同序列的C1-INH融合蛋白,由在各种条件下培养以增强糖基化的细胞系表达的C1-INH融合蛋白具有改变、改进、增强、人源化和/或优化的糖基化特征。在一些实施方案中,相较于由在各种条件下培养以增强唾液酸化的细胞系表达,具有相同序列的C1-INH融合蛋白,由在各种条件下培养以增强唾液酸化的细胞系表达的C1-INH融合蛋白具有改变、改进、增强、人源化和/或优化的唾液酸化特征。

[0237] 在一些实施方案中,相较于Ruconest,C1-INH融合蛋白具有改变、改进、增强、人源化和/或优化的糖基化特征。在一些实施方案中,相较于人血浆源性C1-INH,C1-INH融合蛋白具有改变、改进、增强、人源化和/或优化的糖基化特征。

[0238] 在一些实施方案中,操纵细胞培养条件以实现表达具有所需糖基化特征的蛋白质。这些细胞培养条件包括控制产生和培养过程(包括培养时长),向培养基中添加添加剂,共同表达用以通过增加糖基化来增强糖基化的基因,和/或工程改造细胞以剔除与聚糖降解相关的酶(例如唾液酸酶),阻止其表达,使其失活或对其进行破坏。适于操纵糖基化的方法包括但不限于例如美国专利号5,047,335;5,096,816;5,705,364;7,645,609;8,273,723;8,524,477;8,617,878;8,871,723;PCT公布号W02006/106348;W02007/095506;W02008/025856;W02010/007214;W02010/099394;和W02013/093760中所述的那些,所述专利的公开内容以引用的方式并入本文。

[0239] 对宿主细胞和经转染宿主细胞的特定克隆进行选择也可用于增强糖基化。增强糖基化的其它方法包括开发用以富集具有所需糖基化特征的蛋白质或多肽的纯化方法。

[0240] 操纵蛋白质的唾液酸化特征的各种方法在本领域中是已知的。本发明涵盖这些方法以及尚有待于发现的其它方法。操纵本发明的C1-INH蛋白和多肽的唾液酸化特征的方法包括体外、原位和体内方法。在一些实施方案中,通过表达后化学修饰所表达蛋白质或多肽来改变所表达蛋白质或多肽的唾液酸化特征。在一些实施方案中,操纵细胞培养条件以实现表达具有所需唾液酸化特征的蛋白质。这些细胞培养条件包括控制产生和培养过程(包括培养时长),向培养基中添加添加剂,和/或共同表达用以增强唾液酸化的基因。对宿主细胞和经转染宿主细胞的特定克隆进行选择也可用于增强唾液酸化。增强唾液酸化的其它方法包括开发用以富集具有所需唾液酸化特征的蛋白质或多肽的纯化方法。

[0241] 也可通过本文所述的各种方法来操纵唾液酸化。在不希望受任何理论束缚下,发现唾液酸化降低与所公开构建体的肝素结合增加,由此阻止C1-INH结合位点结合靶标相关联。肝素结合也增加内化至溶酶体中,由此使清除率增加的可能性。

[0242] 哺乳动物细胞系

[0243] 易经受细胞培养以及多肽表达的任何哺乳动物细胞或细胞类型都可根据本发明用作宿主细胞。可根据本发明使用的哺乳动物细胞的非限制性实例包括人胚肾293细胞(HEK293)、HeLa细胞;BALB/c小鼠骨髓瘤株系(NS0/1,ECACC编号:85110503);人视网膜母细

胞(PER.C6(CruCell,Leiden,The Netherlands));由SV40转化的猴肾CV1株系(COS-7,ATCC CRL 1651);人胚肾株系(被亚克隆以悬浮培养生长的293或293细胞,Graham等,J.Gen.Virol.,36:59(1977));幼小仓鼠肾细胞(BHK,ATCC CCL 10);中国仓鼠卵巢细胞+/-DHFR(CHO,Urlaub和Chasin,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,77:4216(1980));小鼠塞尔托利细胞(TM4,Mather,Biol.Reprod.,23:243-251(1980));猴肾细胞(CV1 ATCC CCL 70);非洲绿猴肾细胞(VERO-76,ATCC CRL-1587);人宫颈癌细胞(HeLa,ATCC CCL 2);犬肾细胞(MDCK,ATCC CCL 34);水牛大鼠肝细胞(BRL 3A,ATCC CRL 1442);人肺细胞(W138,ATCC CCL 75);人肝细胞(Hep G2,HB 8065);小鼠乳腺肿瘤(MMT 060562,ATCC CCL51);TRI细胞(Mather等,Annals N.Y.Acad.Sci.,383:44-68(1982));MRC 5细胞;FS4细胞;和人肝细胞瘤株系(Hep G2)。在一些实施方案中,合适的哺乳动物细胞不是内体酸化缺陷细胞。

[0244] 另外,表达多肽或蛋白质的许多可商购和非可商购获得的杂交瘤细胞系可根据本发明加以利用。本领域技术人员将了解杂交瘤细胞系可能具有不同营养要求和/或可能要求不同培养条件以达成最优生长和多肽或蛋白质表达,并且将能够根据需要修改条件。

[0245] 非哺乳动物细胞系

[0246] 易经受细胞培养以及多肽表达的任何非哺乳动物源性细胞或细胞类型都可根据本发明用作宿主细胞。可根据本发明使用的非哺乳动物宿主细胞和细胞系的非限制性实例包括源于以下的细胞和细胞系:对于酵母来说的巴斯德毕赤酵母(*Pichia pastoris*)、甲醇毕赤酵母(*Pichia methanolica*)、安格斯毕赤酵母(*Pichia angusta*)、粟酒裂殖酵母(*Schizosaccharomyces pombe*)、酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)和解脂耶罗威亚酵母(*Yarrowia lipolytica*);对于昆虫来说的草地贪夜蛾(*Sodoptera frugiperda*)、粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)、黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)和烟草天蛾(*Manduca sexta*);以及对于细菌来说的大肠杆菌(*Escherichia coli*)、鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)、脆弱拟杆菌(*Bacteroides fragilis*)、产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*)、艰难梭菌(*Clostridium difficile*);和来自两栖动物的爪蟾(*Xenopus laevis*)。

[0247] 适合于贴壁生长相对于悬浮生长

[0248] 在某些实施方案中,基于在选择用于培养细胞的特定条件下的某些优选属性或生长来选择用于产生细胞系的宿主细胞。本领域技术人员应了解,所述属性可基于确定株系(即可商购获得的经表征细胞系)的已知特征和/或性状或通过经验评估来确定。在一些实施方案中,细胞系可由于它能够在细胞滋养层上生长而被选择。在一些实施方案中,细胞系可由于它能够悬浮生长而被选择。在一些实施方案中,细胞系可由于它能够以贴壁细胞单层形式生长而被选择。在一些实施方案中,此类细胞可与任何组织培养容器或用合适的贴壁基质处理的任何容器一起使用。在一些实施方案中,合适的贴壁基质选自由以下组成的组:胶原蛋白(例如胶原蛋白I、II、III或IV)、明胶、纤连蛋白、层粘连蛋白、玻连蛋白(vitronectin)、纤维蛋白原、BD Matrigel™、基底膜基质、硫酸皮肤素蛋白聚糖、聚D-赖氨酸和/或其组合。在一些实施方案中,可选择贴壁宿主细胞,并且在特定生长条件下加以改进以进行悬浮生长。改进贴壁细胞以进行悬浮生长的此类方法在本领域中是已知的。举例来说,可通过随时间从生长培养基逐渐移除动物血清来使细胞适应于悬浮培养生长。

[0249] 细胞系选择和评估

[0250] 根据本发明,被工程改造以表达重组C1-INH融合蛋白的细胞由于它能够在商业可行规模上产生重组C1-INH融合蛋白而被选择。具体而言,根据本发明的经工程改造细胞能够在高水平下和/或以高度酶活性产生重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,一旦在细胞培养条件(例如标准大规模悬浮或贴壁培养条件)下培育,所需细胞即可以是或大于约5皮克/细胞/天(例如大于约10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95或100皮克/细胞/天)的量产生C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,一旦在细胞培养条件(例如标准大规模悬浮或贴壁培养条件)下培育,所需细胞即能够以在约5-100皮克/细胞/天(例如约5-90皮克/细胞/天、约5-80皮克/细胞/天、约5-70皮克/细胞/天、约5-60皮克/细胞/天、约5-50皮克/细胞/天、约5-40皮克/细胞/天、约5-30皮克/细胞/天、约10-90皮克/细胞/天、约10-80皮克/细胞/天、约10-70皮克/细胞/天、约10-60皮克/细胞/天、约10-50皮克/细胞/天、约10-40皮克/细胞/天、约10-30皮克/细胞/天、约20-90皮克/细胞/天、约20-80皮克/细胞/天、约20-70皮克/细胞/天、约20-60皮克/细胞/天、约20-50皮克/细胞/天、约20-40皮克/细胞/天、约20-30皮克/细胞/天)的范围内的量产生C1-INH融合蛋白。

[0251] C1-INH的半衰期可受糖基化特征影响。如上所讨论,本发明的细胞可被工程改造以改进所表达C1-INH融合蛋白的糖基化特征。举例来说,已显示 **Ruconest[®]** (PharmingN.V.)作为一种唾液酸化程度较小和/或与血浆源性人C1-INH具有不同唾液酸化分布的重组C1-INH多肽,相比于血浆源性人C1-INH,具有较短半衰期。Davis, B. 和 Bernstein, J.A., Conestat alfa for the treatment of angioedema attacks, Ther Clin Risk Manag. 7:265-273(2011); Koles, K.等, Influence of lactation parameters on the N-glycosylation of recombinant human Clinhibitor isolated from the milk of transgenic rabbits, Glycobiology, 14(11):979-986(2004); Koles, K.等, N-and O-glycans of recombinant human C1 inhibitor expressed in the milk of transgenic rabbits, Glycobiology, 14(1):51-64(2004)。

[0252] 细胞培养基和培养条件

[0253] 各种细胞培养基和培养条件可用于使用根据本发明的经工程改造细胞产生重组C1-INH融合蛋白。举例来说,可在含血清或无血清培养基中产生重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,在无血清培养基中产生重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,在无动物物质培养基即缺乏动物源性组分的培养基中产生重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,在化学成分确定的培养基中产生重组C1-INH融合蛋白。如本文所用,术语“化学成分确定的营养培养基”是指其中基本上所有化学组分都是已知的培养基。在一些实施方案中,化学成分确定的营养培养基不含动物源性组分诸如血清、血清源性蛋白质(例如白蛋白或胎球蛋白)和其它组分。在一些情况下,化学成分确定的培养基包含一种或多种蛋白质(例如蛋白质生长因子或细胞因子。)在一些情况下,化学成分确定的营养培养基包含一种或多种蛋白质水解物。在其它情况下,化学成分确定的营养培养基是无蛋白质培养基,即不含有蛋白质、水解物或组成未知的组分的无血清培养基。

[0254] 在一些实施方案中,化学成分确定的培养基可补充以一种或多种动物源性组分。此类动物源性组分包括但不限于胎牛血清、马血清、山羊血清、驴血清、人血清和血清源性蛋白质诸如白蛋白(例如牛血清白蛋白或人血清白蛋白)。

[0255] 各种细胞培养条件可用于在大规模上产生重组C1-INH融合蛋白,包括但不限于滚瓶培养、生物反应器分批培养、灌注培养和生物反应器补料-分批培养。在一些实施方案中,由悬浮培养的细胞产生重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,由贴壁细胞产生重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,灌注培养用于控制所表达蛋白质的糖基化。示例性灌注培养方法包括但不限于例如美国专利号6,528,286和PCT公布号W01996/039488A1中所述的那些,所述专利的公开内容以引用的方式并入本文。

[0256] 示例性细胞培养基和培养条件描述于实施例章节中。所述实施例不意图具有限制性。

[0257] 纯化所表达的C1-INH融合蛋白

[0258] 各种方法可用于纯化或分离根据本文所述的各种方法产生的C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,所表达C1-INH融合蛋白被分泌至培养基中,并且因此可如例如通过离心或过滤来移除细胞和其它固体,作为纯化过程中的第一步。或者或另外,所表达的C1-INH融合蛋白结合于宿主细胞的表面。在这个实施方案中,使表达多肽或蛋白质的宿主细胞溶解以进行纯化。溶解哺乳动物宿主细胞可通过为本领域普通技术人员所熟知的许多手段来实现,包括用玻璃珠物理破坏和暴露于高pH条件。

[0259] C1-INH融合蛋白可通过标准方法来分离和纯化,所述方法包括但不限于色谱法(例如离子交换、亲和、尺寸排阻和羟磷灰石色谱法)、凝胶过滤、离心、或溶解性差异、乙醇沉淀或通过用于纯化蛋白质的任何其它可用技术(参见例如Scopes, Protein Purification Principles and Practice第2版, Springer-Verlag, New York, 1987; Higgins, S.J.和Hames, B.D. (编), Protein Expression: A Practical Approach, Oxford Univ Press, 1999; 以及Deutscher, M.P., Simon, M.I., Abelson, J.N. (编), Guide to Protein Purification: Methods in Enzymology (Methods in Enzymology Series, 第182卷), Academic Press, 1997, 全都以引用的方式并入本文)。特别是对于免疫亲和和色谱法,可通过使蛋白质结合亲和柱来对它进行分离,所述亲和柱包含针对该蛋白质所产生,并且固定于固定载体的抗体。或者,可通过标准重组技术来使亲和标签诸如流感衣壳序列、多聚组氨酸或谷胱甘肽-S-转移酶连接于蛋白质以允许通过穿过适当亲和柱来达成简易纯化。可在任何或所有阶段添加蛋白酶抑制剂诸如苯基甲基磺酰基氟(PMSF)、亮肽素、抑肽素或抑肽酶以降低或消除在纯化过程期间多肽或蛋白质的降解。当必须使细胞溶解以分离和纯化所表达多肽或蛋白质时,特别需要蛋白酶抑制剂。

[0260] IgG1 LALA Fc全长C1-抑制剂的蛋白质A HP纯化显示于图3中。蛋白质A捕获融合蛋白在小规模上是成功的,但当按比例扩大时观察到聚集。在不希望受任何理论束缚下,为洗脱所必需的低pH似乎导致聚集以及使C1-INH失活。在一些实施方案中,纯化不涉及低pH步骤。在一些实施方案中,使融合蛋白突变以使蛋白质在低pH下稳定。在其它实施方案中,添加剂用于保护C1-INH融合蛋白免遭在低pH洗脱步骤期间聚集。在其它实施方案中,非蛋白质A树脂用于纯化蛋白质。

[0261] 避免与蛋白质A纯化C1-INH Fc融合蛋白相关的问题的示例性纯化方法描述于以下实施例章节中。适于纯化的树脂包括但不限于阴离子交换树脂、白蛋白亲和树脂、C1抑制剂亲和树脂和蛋白质A树脂。在一些实施方案中,不要求pH下降的纯化方法是优选的。在一些实施方案中,不要求酸性pH用于洗脱的纯化方法是优选的。在其它实施方案中,利用防止

聚集的稳定剂。在一些实施方案中,防止聚集的稳定剂用于要求pH下降的方法中。合适的稳定剂的非限制性实例包括EDTA。

[0262] 适于纯化本发明的C1-INH融合蛋白的方法包括但不限于例如美国专利号5,276,141;US7384754;8,802,816;PCT公布号W02012107572;和W02013009526中所述的那些,所述专利的公开内容以引用的方式并入本文。

[0263] 药物组合物

[0264] 本发明进一步提供一种含有本文所述的重组C1-INH融合蛋白和生理上可接受的载体或赋形剂的药物组合物。载体和重组C1-INH融合蛋白可为无菌的。制剂应适合施用模式。

[0265] 合适的药学上可接受的载体包括但不限于水、盐溶液(例如NaCl)、盐水、缓冲盐水、醇、甘油、乙醇、阿拉伯胶(gum arabic)、植物油、苯甲醇、聚乙二醇、明胶、碳水化合物(诸如乳糖、直链淀粉或淀粉)、糖(诸如甘露糖醇、蔗糖或其它糖)、右旋糖、硬脂酸镁、滑石、硅酸、粘稠石蜡、芳香油、脂肪酸酯、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮等以及其组合。必要时,可使药物制剂与不有害地与活性化合物反应或干扰它们的活性的助剂(例如润滑剂、防腐剂、稳定剂、湿润剂、乳化剂、用于影响渗透压的盐、缓冲剂、着色剂、调味剂和/或芳族物质等)混合。在一优选实施方案中,使用适于静脉内施用的水溶性载体。

[0266] 必要时,合适的药物组合物或药剂也可含有少量湿润剂或乳化剂或pH缓冲剂。组合物可为液体溶液、混悬液、乳液、片剂、丸剂、胶囊、持续释放制剂或粉剂。组合物也可用传统粘合剂和载体诸如甘油三酯配制成栓剂。口服制剂可包括标准载体,诸如药用级的甘露糖醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、糖精钠、纤维素、碳酸镁等。

[0267] 可根据常规程序将药物组合物或药剂配制成适合于向人类施用的药物组合物。举例来说,在一些实施方案中,用于静脉内施用的组合物通常是于无菌等张水性缓冲液中的溶液。必要时,组合物也可包括增溶剂和局部麻醉剂以减轻注射部位处的疼痛。通常,单独或以单位剂型混合在一起来将成分供应于诸如安瓿或药囊的指示活性剂的量的气密容器中,所述单位剂型例如呈干燥冻干粉末或无水浓缩物形式。当组合物待通过输注施用,它可用含有无菌药用级水、盐水或右旋糖/水的输注瓶分配。当组合物通过注射施用,可提供含无菌注射用水或盐水的安瓿以使成分可在施用之前加以混合。

[0268] 可将本文所述的重组C1-INH融合蛋白配制成中性形式或盐形式。药学上可接受的盐包括以游离氨基形成的盐,诸如由盐酸、磷酸、乙酸、草酸、酒石酸等获得的那些;以及以游离羧基形成的盐,诸如由钠、钾、铵、钙、氢氧化铁、异丙胺、三乙胺、2-乙基氨基乙醇、组氨酸、普鲁卡因(procaine)等获得的那些。

[0269] 一优选制剂包含50mMNaPO₄ (pH 7.2)、50mM山梨糖醇和150mM甘氨酸。制剂可为液体,或可被冻干并且在施用之前复原。

[0270] 施用途径

[0271] 本文所述的重组C1-INH融合蛋白(或含有本文所述的重组C1-INH融合蛋白的组合物或药剂)通过任何适当途径来施用。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物被全身性施用。全身性施用可为静脉内、皮内、颅内、鞘内、吸入、经皮(局部)、眼内、肌肉内、皮下、肌肉内、口服和/或经粘膜施用。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物被皮下施用。如本文所用,术语“皮下组织”定义为紧靠在皮肤下的

一层松散、不规则结缔组织。举例来说,皮下施用可通过向包括但不限于大腿区域、腹部区域、臀区域或肩胛区域的区域中注射组合物来进行。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物被静脉内施用。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物被口服施用。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物被颅内施用。在一些实施方案中,重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物被鞘内施用。必要时,可并行使用一种以上途径。

[0272] 在一些实施方案中,通过鞘内施用来向受试者施用重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物。如本文所用,术语“鞘内施用”或“鞘内注射”是指向脊髓管(脊髓周围的鞘内间隙)中注射。可使用各种技术,包括但不限于通过钻孔或脑池或腰椎穿刺等进行侧向脑室注射。在一些实施方案中,根据本发明的“鞘内施用”或“鞘内递送”是指通过腰部区或区域进行鞘内施用或递送,即腰部鞘内施用或递送。如本文所用,术语“腰部区域”或“腰部区”是指第三与第四腰部(下背部)脊椎之间的区域,并且更具包容性地来说,是指脊柱的L2-S1区域。

[0273] 在一些实施方案中,通过皮下(即在皮肤下)施用来向受试者施用重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物。出于所述目的,可使用注射器注射制剂。然而,用于施用制剂的其它装置是可用的,诸如注射装置(例如Inject-easeTM和GenjectTM装置);注射笔(诸如GenPenTM);无针装置(例如MediJectorTM和BioJectorTM);和皮下贴片递送系统。

[0274] 在一些实施方案中,鞘内施用可与其它施用途径(例如静脉内、皮下、肌肉内、胃肠外、经皮或经粘膜(例如口服或经鼻))联合使用。

[0275] 本发明涵盖单次以及多次施用治疗有效量的本文所述的重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物。可视受试者的病状(例如溶酶体贮积病)的性质、严重性和程度而定,以定期间隔施用重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物。在一些实施方案中,可以定期间隔(例如每年一次、每六个月一次、每五个月一次、每三个月一次、每两月(每两个月一次)、每月(每个月一次)、每两周(每两周一次)、每周、每日或连续)定期施用治疗有效量的重组C1-INH融合蛋白或含有其的药物组合物。

[0276] 在一些实施方案中,施用仅在个体中产生局部作用,而在其它实施方案中,施用遍及个体的多个部分产生作用,例如全身性作用。通常,施用导致向一个或多个靶标组织递送重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,向一个或多个靶标组织递送重组C1-INH融合蛋白,所述组织包括但不限于心脏、脑、皮肤、血液、脊髓、横纹肌(例如骨骼肌)、平滑肌、肾、肝、肺和/或脾。在一些实施方案中,向心脏递送重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,向中枢神经系统,特别是脑和/或脊髓递送重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,向三头肌、胫骨前肌、比目鱼肌、腓肠肌、二头肌、斜方肌、三角肌、四头肌和/或横隔膜递送重组C1-INH融合蛋白。

[0277] 剂型和给药方案

[0278] 在一些实施方案中,以治疗有效量和/或根据与特定所需结果相关联(例如与防治补体介导的慢性疾病诸如HAE相关联)的给药方案施用组合物。

[0279] 待根据本发明施用的特定剂量或量可例如视以下而变化:所需结果的性质和/或程度、施用途径和/或时机选择的细节、和/或一种或多种特征(例如重量、年龄、个人史、遗传特征、生活方式参数、心脏缺陷的严重性和/或心脏缺陷的风险水平等或其组合)。所述剂

量或量可由普通技术人员确定。在一些实施方案中,根据标准临床技术确定适当剂量或量。或者或另外,在一些实施方案中,通过使用一种或多种体外或体内测定以帮助确定待施用的合乎需要或最优剂量范围或量来确定适当剂量或量。

[0280] 在各种实施方案中,以治疗有效量施用重组C1-INH融合蛋白。通常,治疗有效量足以实现对受试者有意义的益处(例如防治、治疗、调节、治愈、预防和/或改善潜伏疾病或病状)。通常,向有此需要的受试者施用的治疗剂(例如重组C1-INH融合蛋白)的量将取决于所述受试者的特征。所述特征包括受试者的病状、疾病严重性、总体健康状况、年龄、性别和体重。本领域普通技术人员将易于能够确定视这些和其它相关因素而定的适当剂量。此外,客观测定与主观测定两者均可任选用于确定最优剂量范围。在一些特定实施方案中,待施用的适当剂量或量可根据由体外或动物模型测试系统获得的剂量-响应曲线外推。

[0281] 在一些实施方案中,提供呈药物制剂形式的组合物。在一些实施方案中,药物制剂是或包含单位剂量以根据与实现HAE发作的发生率或风险降低相关联的给药方案来施用。

[0282] 在一些实施方案中,以单次剂量形式施用包含本文所述的重组C1-INH融合蛋白的制剂。在一些实施方案中,以定期间隔施用包含本文所述的重组C1-INH融合蛋白的制剂。如本文所用,以某一“间隔”施用指示定期施用治疗有效量(不同于一次性给药)。可通过标准临床技术确定间隔。在一些实施方案中,每两月、每月、每月两次、每三周、每两周、每周、每周两次、每周三次、每日、每日两次或每六小时施用包含本文所述的重组C1-INH融合蛋白的制剂。视个体的需要而定,用于单一个体的施用间隔无需是固定间隔,而是可随时间改变。

[0283] 通常以可包含多个单位剂量的给药方案施用治疗有效量。对于任何特定治疗性蛋白质,治疗有效量(和/或有效给药方案内的适当单位剂量)可例如视施用途径、与其它药物制剂的组合而变化。此外,用于任何特定患者的具体治疗有效量(和/或单位剂量)可取决于多种因素,包括所治疗病症和病症的严重性;所用具体药物制剂的活性;所用具体组合物;患者的年龄、体重、总体健康状况、性别和膳食;施用时间、施用途径和/或所用具体融合蛋白的排泄或代谢速率;治疗的持续时间;以及如医学领域中所熟知的类似因素。

[0284] 如本文所用,术语“每两月”意指每两个月施用一次(即每两个月一次);术语“每月”意指每个月施用一次;术语“每三周”意指每三周施用一次(即每三周一次);术语“每两周”意指每两周施用一次(即每两周一次);术语“每周”意指每周施用一次;并且术语“每天”意指每天施用一次。

[0285] 在一些实施方案中,以定期间隔无限期地施用包含本文所述的重组C1-INH融合蛋白的制剂。在一些实施方案中,以定期间隔持续确定时期施用包含本文所述的重组C1-INH融合蛋白的制剂。

[0286] 应进一步了解对于任何特定受试者,应根据个体需要和施用酶补充疗法或监督酶补充疗法的施用的人士的专业判断随时间调整具体剂量方案,并且本文阐述的剂量范围仅具有示例性而不意图限制要求保护的发明的范围或实施。

[0287] 组合疗法

[0288] 在一些实施方案中,与一种或多种当前用于治疗补体介导的疾病的已知治疗剂(例如皮质类固醇)组合施用重组C1-INH融合蛋白。在一些实施方案中,根据它的标准或核准给药方案和/或时程施用已知治疗剂。在一些实施方案中,根据相较于它的标准或核准给药方案和/或时程被改变的方案施用已知治疗剂。在一些实施方案中,这种改变的方案在以

下方面不同于标准或核准给药方案:一个或多个单位剂量的量被改变(例如降低或增加),和/或给药的频率被改变(例如一个或多个在单位剂量之间的间隔被扩大,从而导致频率较低,或所述间隔被降低,从而导致频率较高)。

[0289] A.病症

[0290] 优选实施方案是治疗慢性病症。

[0291] 在一些实施方案中,由本发明提供的融合蛋白适于与补体介导的病症相关的急性发作,例如NMOSD AMR和HAE事件。这些发作可为长期的或短期的。在一些实施方案中,疾病或病症是慢性的。在一些实施方案中,以防治性方式使用本发明的组合物和方法。可使用本文公开的组合物和方法治疗的示例性补体介导的疾病包括但不限于遗传性血管性水肿、抗体介导的排斥、视神经脊髓炎谱系病症、创伤性脑损伤、脊髓损伤、缺血性脑损伤、灼烧损伤、中毒性表皮坏死溶解、多发性硬化症、肌萎缩性脊髓侧索硬化(ALS)、帕金森氏病、中风、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病变(CIDP)、重症肌无力、多灶性运动神经病变。

[0292] 本发明提供了如下实施方式:

[0293] 实施方式1.一种融合蛋白,其包含:

[0294] 人C1-抑制剂多肽;和

[0295] Fc结构域。

[0296] 实施方式2.如实施方式1所述的融合蛋白,其中所述人C1-抑制剂多肽包含与具有SEQ ID NO:1的全长人C1-抑制剂具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0297] 实施方式3.如实施方式1所述的融合蛋白,其中所述人C1-抑制剂多肽包含SEQ ID NO:1。

[0298] 实施方式4.如实施方式1所述的融合蛋白,其中相较于SEQ ID NO:1,所述人C1-抑制剂多肽被截短。

[0299] 实施方式5.如实施方式4所述的融合蛋白,其中所述人C1-抑制剂多肽包含与SEQ ID NO:2具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0300] 实施方式6.如实施方式4所述的融合蛋白,其中所述人C1-抑制剂多肽包含氨基酸序列SEQ ID NO:2。

[0301] 实施方式7.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域连接于所述人C1-抑制剂多肽的N末端。

[0302] 实施方式8.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域是人IgG1 Fc结构域。

[0303] 实施方式9.如实施方式8所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含与SEQ ID NO:3具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0304] 实施方式10.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含L234A和/或L235A突变。

[0305] 实施方式11.如实施方式10所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:4。

[0306] 实施方式12.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含一个或多个延长所述融合蛋白的半衰期的突变。

[0307] 实施方式13.如实施方式12所述的融合蛋白,其中所述一个或多个突变选自一个或多个对应于人IgG1的Thr250、Met 252、Ser 254、Thr256、Thr 307、Glu 380、Met428、His 433和/或Asn 434的位置。

[0308] 实施方式14.如实施方式12所述的融合蛋白,其中所述一个或多个突变选自H433K和/或N434F。

[0309] 实施方式15.如实施方式12-14中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含与SEQ ID NO:5-8中的任一个具有至少80%同一性的氨基酸序列。

[0310] 实施方式16.如实施方式14所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含SEQ ID NO:5-8中的任一个的氨基酸序列。

[0311] 实施方式17.如实施方式1-7中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域源于人IgG4 Fc。

[0312] 实施方式18.如实施方式17所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含与SEQ ID NO:9具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0313] 实施方式19.如实施方式18所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含S241P突变。

[0314] 实施方式20.如实施方式19所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:10。

[0315] 实施方式21.如实施方式1所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:11具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0316] 实施方式22.如实施方式1所述的融合蛋白,其包含与SEQ IDNO:12具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0317] 实施方式23.如实施方式1所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:13具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0318] 实施方式24.如实施方式1所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:14具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0319] 实施方式25.如实施方式1所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:15具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0320] 实施方式26.如实施方式1所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:16具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0321] 实施方式27.如实施方式1所述的融合蛋白,其包含选自SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:16的氨基酸序列。

[0322] 实施方式28.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含降低或消除ADCC活性的突变。

[0323] 实施方式29.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含降低或消除CDC活性的突变。

[0324] 实施方式30.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含降低或消除Fc γ R结合的突变。

[0325] 实施方式31.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述Fc结构域包含降低或消除Fc γ R效应功能的突变。

[0326] 实施方式32.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述重组人C1-抑制

剂Fc融合蛋白包含降低或消除C1q结合的突变。

[0327] 实施方式33.如实施方式32所述的融合蛋白,其中降低或消除C1q结合的所述突变在所述Fc结构域中。

[0328] 实施方式34.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其还包含在所述人C1-抑制剂多肽与所述Fc结构域之间的接头。

[0329] 实施方式35.如实施方式34所述的融合蛋白,其中所述接头是包含3-100个氨基酸的肽。

[0330] 实施方式36.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白抑制C1r和/或C1s蛋白酶活性和/或使C1r和/或C1s蛋白酶活性失活。

[0331] 实施方式37.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白抑制体外红血细胞的溶解。

[0332] 实施方式38.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中相比于血浆源性人C1-抑制剂,所述融合蛋白具有更长的半衰期。

[0333] 实施方式39.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白具有至少4天的半衰期。

[0334] 实施方式40.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白具有至少5天的半衰期。

[0335] 实施方式41.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白具有至少6天的半衰期。

[0336] 实施方式42.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白具有至少7天的半衰期。

[0337] 实施方式43.如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白是单价的。

[0338] 实施方式44.如实施方式1-42中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白是二聚的。

[0339] 实施方式45.一种融合蛋白,其包含:

[0340] 人C1-抑制剂多肽;和

[0341] 白蛋白多肽。

[0342] 实施方式46.如实施方式45所述的融合蛋白,其中所述人C1-抑制剂多肽包含与具有SEQ ID NO:1的人全长C1-抑制剂具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0343] 实施方式47.如实施方式46所述的融合蛋白,其中所述人C1-抑制剂多肽包含SEQ ID NO:1。

[0344] 实施方式48.如实施方式45-47中任一项所述的融合蛋白,其中相较于SEQ ID NO:1,所述人C1-抑制剂多肽被截短。

[0345] 实施方式49.如实施方式48所述的融合蛋白,其中所述人C1-抑制剂多肽包含与SEQ ID NO:2具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0346] 实施方式50.如实施方式49所述的融合蛋白,其中所述人C1-抑制剂多肽包含氨基酸序列SEQ ID NO:2。

[0347] 实施方式51.如实施方式45-50中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白连接于所述人C1-抑制剂多肽的N末端。

[0348] 实施方式52.如实施方式45-51中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白多肽包含人血清白蛋白的一个或多个结构域。

[0349] 实施方式53.如实施方式52所述的融合蛋白,其中所述白蛋白多肽包含人血清白蛋白的D3结构域。

[0350] 实施方式54.如实施方式53所述的融合蛋白,其中所述白蛋白多肽包含与SEQ ID NO:20具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0351] 实施方式55.如实施方式54所述的融合蛋白,其中所述白蛋白多肽包含氨基酸序列SEQ ID NO:20。

[0352] 实施方式56.如实施方式45-52中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白多肽包含与SEQ ID NO:17具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0353] 实施方式57.如实施方式56所述的融合蛋白,其中所述白蛋白多肽包含氨基酸序列SEQ ID NO:17。

[0354] 实施方式58.如实施方式45-57中任一项所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:18具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0355] 实施方式59.如实施方式45-57中任一项所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:19具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0356] 实施方式60.如实施方式45-57中任一项所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:21具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0357] 实施方式61.如实施方式45-57中任一项所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:22具有至少70%、75%、80%、85%、90%或95%同一性的氨基酸序列。

[0358] 实施方式62.如实施方式44-56中任一项所述的融合蛋白,其包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:22同一的氨基酸序列。

[0359] 实施方式63.如实施方式45-62中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白结合FcRN。

[0360] 实施方式64.如实施方式45-63中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白抑制C1酯酶活性。

[0361] 实施方式65.如实施方式45-64中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白抑制体外红血细胞的溶解。

[0362] 实施方式66.如实施方式45-65中任一项所述的融合蛋白,其还包含在所述人C1-抑制剂多肽与所述白蛋白多肽之间的接头。

[0363] 实施方式67.如实施方式66所述的融合蛋白,其中所述接头是包含3-100个氨基酸的肽。

[0364] 实施方式68.如实施方式67所述的融合蛋白,其中所述接头包含序列GGG。

[0365] 实施方式69.如实施方式67所述的融合蛋白,其中所述接头包含序列SEQ ID NO:27。

[0366] 实施方式70.如实施方式45-69中任一项所述的融合蛋白,其中所述白蛋白多肽不包含一个或多个选自由464His、510His、535His及其组合组成的组的突变。

[0367] 实施方式71.如实施方式45-70中任一项所述的融合蛋白,其中相比于血浆源性人C1-抑制剂,所述融合蛋白具有更长的半衰期。

[0368] 实施方式72.如实施方式45-71中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白具有至少4天的半衰期。

[0369] 实施方式73.如实施方式45-71中任一项所述的重组人C1-抑制剂白蛋白融合蛋白,其中所述融合蛋白具有至少5天的半衰期。

[0370] 实施方式74.如实施方式45-71中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白具有至少6天的半衰期。

[0371] 实施方式75.如实施方式45-71中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白具有至少7天的半衰期。

[0372] 实施方式76.一种核酸,其编码如前述实施方式中任一项所述的融合蛋白。

[0373] 实施方式77.一种细胞,其包含如实施方式76所述的核酸。

[0374] 实施方式78.如实施方式77所述的细胞,其中所述细胞是哺乳动物细胞。

[0375] 实施方式79.如实施方式78所述的细胞,其中所述哺乳动物细胞是人细胞。

[0376] 实施方式80.如实施方式78所述的细胞,其中所述哺乳动物细胞是中国仓鼠卵巢(CHO)细胞。

[0377] 实施方式81.如实施方式77-80中任一项所述的细胞,其中所述细胞被工程改造以修饰糖基化。

[0378] 实施方式82.如实施方式81所述的细胞,其中所述细胞被工程改造以改进唾液酸化。

[0379] 实施方式83.一种产生融合蛋白的方法,其包括培育如实施方式77-82中任一项所述的细胞的步骤。

[0380] 实施方式84.如实施方式1-75中任一项所述的融合蛋白,其中所述融合蛋白由被工程改造以改进唾液酸化的细胞产生。

[0381] 实施方式85.一种药物组合物,其包含如实施方式1-75和84中任一项所述的融合蛋白和药学上可接受的载体。

[0382] 实施方式86.一种治疗补体介导的病症的方法,其包括向需要治疗的受试者施用如实施方式85所述的药物组合物。

[0383] 实施方式87.如实施方式86所述的方法,其中所述补体介导的病症选自遗传性血管性水肿、抗体介导的排斥、视神经脊髓炎谱系病症、创伤性脑损伤、脊髓损伤、缺血性脑损伤、灼烧损伤、中毒性表皮坏死溶解、多发性硬化症、肌萎缩性脊髓侧索硬化(ALS)、帕金森氏病、中风、慢性炎症性脱髓鞘性多发性神经病变(CIDP)、重症肌无力、多灶性运动神经病变。

实施例

[0384] 本发明的其它特征、目标和优势在随后实施例中是显而易知的。然而,应了解尽管指示本发明的实施方案,但实施例仅通过说明而非限制方式给出。在本发明的范围内的各种变化和修改将根据实施例而变得为本领域技术人员显而易见。

[0385] 实施例1.Fc融合蛋白

[0386] 这个实施例说明各种示例性融合蛋白构建体和此类融合蛋白构建体在哺乳动物细胞中的瞬时或按比例扩大表达。如以下所示,使野生型或突变Fc部分融合于全长(1-478个氨基酸)或截短(98-478个氨基酸)的人C1-抑制剂。

[0387] A.Fc-C1-抑制剂融合物表达构建体

[0388] 根据上述方法制备全长C1-抑制剂与N末端IgG1 Fc的融合蛋白,其具有以下氨基酸序列(Fc部分加下划线):

[0389] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKNPNATSSS
SQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNSATKITANTTDEPTTQPTT
EPTTQPTIQTPTTQLPTDSPTQPTTGSFCGPGVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKL
YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
FTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
KISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYP
VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
FQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLNLGLTEDPDLQVSAMQHQTVELELT
ETGVEAAAASAI SVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID
NO:11).

[0390] 根据上述方法制备截短的C1-抑制剂与N末端IgG1 Fc的融合蛋白,其具有以下氨基酸序列(Fc部分加下划线):

[0391] DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSFCGPG
VTLCSDESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGA
GENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSS
SPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPK
KTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKH
RLDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDL
NLGLTEDPDLQVSAMQHQTVELELTETGVEAAAASAI SVARTLLVFEVQQPFLFVLWD
QQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:12).

[0392] 由于C1-INH多肽的截短部分上的丝氨酸和苏氨酸残基被移除,所以具有N末端IgG1 Fc的截短的C1-抑制剂消除大量碳水化合物位点。这些氨基酸具有在翻译后加工时变成糖基化的OH部分。在不希望受任何理论束缚下,消除这个碳水化合物会降低通过唾液酸糖蛋白受体来对分子的潜在清除,此可延长Fc-C1-抑制剂融合蛋白的半衰期。

[0393] 在不希望受任何理论束缚下,去唾液酸糖蛋白不是唯一清除机理。也有基于存在其它聚糖的主动清除途径。Fc结构域不结合FcRN受体直至复合物已被内化在内体中。内体内的pH下降允许发生结合。在一些实施方案中,通过操纵C1-INH融合构建体的糖基化特征,主动清除过程得以减少、减缓和/或消除。这允许被动Fc再循环过程有效增加半衰期。在一些实施方案中,截短的C1-INH多肽是优选的。截短可移除与主动清除相关的糖基化部分。此外,截短形式在尺寸方面较小,此可增加吸收,特别是在皮下施用。

[0394] IgG1 LALA突变消除可由于野生型IgG1 Fc序列而发生的补体活化和ADCC。制备全长C1-INH IgG1 Fc效应物失效构建体与截短的C1-INH IgG1 Fc效应物失效构建体两者。

[0395] 根据上述方法制备具有N末端IgG1 LALA Fc的全长C1-抑制剂,其具有以下氨基酸序列(Fc部分加下划线,LALA突变用粗体表示):

[0396] DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKNPNATSSS
SQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNSTTNSATKITANTTDEPTTQPTT
EPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKL
YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
FTTKGVTSVSVQIFHSPDLAIRDFTFNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
KISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPKKTRMEPFHFKNVSVIKVPMMNKSKYP
VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
FQPTLLTLPRIKVTTSDQDMLSIMEKLEFFDFSFDLNLCLGLTEDPDLQVSAMQHQTVELELT
ETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID
NO:13).

[0397] 根据上述方法制备具有N末端IgG1 LALA Fc的截短的C1-抑制剂,其具有以下氨基酸序列 (Fc部分加下划线,LALA突变用粗体表示):

[0398] DKTHTCPPCPAPEAAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKGSFCGP
VTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGA
GENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSVQIFHSPDLAIRDFTFNASRTLYSS
SPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPK
KTRMEPFHFKNVSVIKVPMMNKSKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLK
HRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSDQDMLSIMEKLEFFDFSFDL
NLCLGLTEDPDLQVSAMQHQTVELELTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWD
QQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:14).

[0399] 根据上述方法制备截短的C1-抑制剂与N末端IgG4 Fc的融合蛋白,其具有以下氨基酸序列 (Fc部分加下划线):

[0400] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGOPENNYKTTTP
VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLKGKNPNATSSS
SQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNSTTNSATKITANTTDEPTTQPTT
EPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKL
YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
FTTKGVTSVSVQIFHSPDLAIRDFTFNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
KISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPKKTRMEPFHFKNVSVIKVPMMNKSKYP
VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
FQPTLLTLPRIKVTTSDQDMLSIMEKLEFFDFSFDLNLCLGLTEDPDLQVSAMQHQTVELELT
ETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID
NO:32).

[0401] 根据上述方法制备截短的C1-抑制剂与N末端IgG4 Fc的融合蛋白,其具有以下氨基酸序列 (Fc部分加下划线):

[0402] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLKGSFCPGPV
 TLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAG
 ENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDFTVNASRTLYSSS
 PRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPKK
 TRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHR
 LEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLN
 LCGLTEDPDLQVSAMQHQTVELETTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQ
 QHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:33).

[0403] 根据上述方法制备具有N末端IgG4 S241P Fc的全长C1-抑制剂,其具有以下氨基酸序列(Fc部分加下划线,S241P突变用粗体表示):

[0404] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLKNPATSSS
 SQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNSTNSATKITANTTDEPTTQPTT
 EPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSDELHSTEAVLGDALVDFSLKL
 YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
 FTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDFTVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
 KISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYP
 VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
 FQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTVELETT
 ETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID
 NO:15).

[0405] 根据上述方法制备具有N末端IgG4 S241P Fc的截短的C1-抑制剂,其具有以下氨基酸序列(Fc部分加下划线,S241P突变用粗体表示):

[0406] ESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIS
KAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPP
VLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLKGSFCPGPV
 TLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAG
 ENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDFTVNASRTLYSSS
 PRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTDFPKK
 TRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHR
 LEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLN
 LCGLTEDPDLQVSAMQHQTVELETTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQ
 QHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:16).

[0407] B. 小规模瞬时表达Fc-C1-抑制剂融合蛋白

[0408] 用各种C1-抑制剂融合质粒(N-hFc、N-hFcLALA和N hFcIgG4m)转染FreeStyle™293-F细胞(悬浮人胚肾细胞,Invitrogen,目录号R790-07)、FreeStyle™CHO-S细胞(悬浮中国仓鼠卵巢细胞,Invitrogen,目录号R800-07)和HT1080细胞,并且以不用DNA转染作为对照。

[0409] 遵循Invitrogen的方案(Invitrogen方案公布号MAN0007818 Rev.1.0,可在https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/FreeStyle_MAX_Reagent_man.pdf处获得),使用293-FreeStyle™MAX试剂(In vitrogen,目录号16447-500)进行293-F和CHO-S细胞转染。在转染之后,将293-F细胞接种至无血清FreeStyle™293表达培养基(Invitro gen,目录号12338-018)中,并且将CHO-S细胞接种至无血清Free Style™CHO表达

培养基 (Invitrogen, 目录号12651-014) 中, 两者均具有30mL的最终培养体积。

[0410] 类似地, 使用标准转染方案 (350V, 960uF, 12e6个细胞, 35µg DNA) 转染HT1080细胞。

[0411] 在转染后4天和7天 (在再次补料之后积累3天) 收获来自转染的细胞培养物的条件培养基 (CM)。通过SDS-PAGE (8-16% TG凝胶, 150V, 持续1.5小时) 来评估融合蛋白表达, 并且用考马斯蓝 (Coomassie blue) 加以显现。

[0412] 为产生效应物失效构建体的稳定汇合物, 在37°C下以 1×10^6 个细胞/毫升接种HT1080经瞬时转染细胞。在恢复2天之后, 在适合的具有250µg/mL博来霉素 (zeocin) 的化学成分确定 (CD) 的培养基中持续2周选择细胞直至细胞展现95%活力。通过SDS-PAGE来评估融合蛋白表达, 并且用考马斯蓝加以显现。发现C1-INH Fc融合构建体的表达大于C1-INH蛋白构建体的表达。

[0413] C. 使用FreeStyle™293-F细胞进行按比例扩大表达

[0414] 用LALA-C1-抑制剂融合质粒 (全长C1与截短的C1两者) 以及IgG4m-C1-抑制剂融合质粒 (全长C1和截短的C1) 转染FreeStyle™293-F细胞。如上所述使用293-FreeStyle™MAX试剂进行转染。

[0415] 在1L振荡烧瓶中, 以320mL工作体积转染细胞。从上述转染的30mL转染体积按比例扩大DNA和FreeStyle™MAX试剂量。在转染后4天收获来自转染细胞的CM, 并且如上所述用SDS-PAGE评估表达。对细胞再次补料以进行第二次收获 (转染后7天, 3天分批收集)。

[0416] C. 表达数据概述

[0417] 相比于天然重组C1, Fc与全长C1-抑制剂的融合物始终以较高水平表达。Fc与截短的C1-抑制剂的融合物类似于天然重组C1-抑制剂进行表达。在关于任何测试构建体的任何宿主细胞培养物样品的情况下都未观察到重度蛋白质剪切。

[0418] 相较于其它测试细胞类型, HEK293瞬时细胞表达尤其增加。相比于如果在C末端放置Fc序列, 在N末端放置Fc序列导致表达尤其增加。

[0419] 实施例2. 表征Fc-C1-INH融合蛋白

[0420] 为表征Fc-C1-抑制剂融合蛋白, 首先使用涉及蛋白质A柱的方法纯化融合蛋白。示例性纯化结果显示于图3中。

[0421] 样品中检测到的C1-抑制剂融合物组合物浓度和总蛋白量描绘于图4中。在单次亲和柱纯化之后获得高度纯化的物质。使用上述纯化方法实现极好的蛋白质产量。

[0422] 样品中检测到的C1-抑制剂融合物组合物内毒素浓度描绘于图5中。低内毒素水平见于最终产物中, 从而使得它们非常适于药物用途。

[0423] 分析以上概述的纯化的Fc融合蛋白的蛋白质纯度、SEC、热稳定性、与FcRN的结合、与C1q的结合和与FcγR1的结合。

[0424] 根据RP HPLC, 用于PK分析的所有样品的纯度都高于97%。在以下示例性条件下进行C1-抑制剂融合蛋白的尺寸排阻色谱法: 柱: Tosoh G3000swx1; 流动相缓冲液: 0.2M磷酸钠, pH 6.8; 流速: 0.5mL/min。

[0425] 以40µL的体积注射样品。运行的样品是LALA C1-抑制剂全长 (FL) R1; LALA C1-抑制剂截短 (TR) R1; IgG4 C1-抑制剂全长 (FL) R1; IgG4 C1-抑制剂截短 (TR) R1; 和20µL BSA对照注射液。

[0426] 结果

[0427] SEC-MALS的示例性结果描绘于表1中。

[0428]	样品名称	g/mol
	LALA FL R1	195,600
	LALA TR R1	峰1=385,000峰2=184,000
	IgG4 FL R1	峰1=984,200峰2=212,300
	IgG4 TR R1	峰1=360,300峰2=191,900

[0429] 表1:SEC-MALS结果

[0430] 通过差示扫描量热法 (DSC) 来评估C1-抑制剂融合蛋白构建体的热稳定性。

[0431] A.Fc融合蛋白与FcRn的结合和Fc效应功能

[0432] 与Fc新生儿受体 (FcRn) 结合允许分子进行再循环,并且导致Fc融合蛋白的体内血清半衰期延长。当分子被被动带入细胞中,并且内体的pH较低时发生再循环。那导致分子的Fc部分结合FcRn。当FcRn再循环回细胞表面时,pH于是呈中性,并且蛋白质被释放回血清中。

[0433] 使用Biacore系统,通过表面等离子体共振 (SPR) 测量与FcRn的细胞外结构域的结合。

[0434] 通过在以下条件下使CM5芯片与FcRn进行胺偶联来实现用FcRn直接固定:

[0435] 将FcRn(Sino Biological Inc或内部BD1)于pH 5.0乙酸盐缓冲液(目录号BR-1003-51)中稀释至10 μ g/mL。

[0436] 流速:10 μ l/min

[0437] 最终偶联信号354Ru

[0438] 运行缓冲液:PBS-P+,调节pH至6.0

[0439] 使用以下方案进行动力学结合研究。将样品于PBS-P+中稀释至100、50、25、12.5、6.25、3.125、0nM。如下设置参数:

[0440] 在流速30 μ L/min下缔合300s以及解离600s

[0441] 用25mM Tris、150mMNaCl (pH 8.0) 再生

[0442] 与FcRn的示例性动力学结合数据的概述描绘于表2中。

	构建体	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	KD
[0443] 全长 C1-Inh	N-hFcLala-C1-INH	2.19E+05	0.003019	1.38E-08
	N-IgG4m-C1-INH	1.87E+05	0.005616	3.00E-08
截短的 C1-Inh	N-hFcLala-C1-INH Tr	8.42E+04	0.008214	9.76E-08
	N-IgG4m-C1-INH Tr	1.34E+05	0.009462	7.07E-08

[0444] 表2:与FcRn的动力学结合数据的概述

[0445] B.Fc融合蛋白与C1q的结合

[0446] 野生型Fc分子具有不同量的效应功能,例如能够活化补体级联、ADCC活性和/或结合不为达成本发明的目的所需的特定Fc受体。需要本发明的C1-INH融合蛋白的患者罹患补体介导的疾病,因此本发明的一目标在于降低或消除与Fc结构域相关的效应功能。本文公开的C1-INHFc融合构建体优选降低或消除效应功能。C1-INH Fc融合构建体优选降低或消除补体活化、ADCC和/或Fc γ 受体。可通过与C1q的结合,也通过与Fc γ 受体的结合来量度效应功能。

[0447] C1q结合ELISA

[0448] 所用C1q结合ELISA方案是:

[0449] • 在4℃下将蛋白质过夜涂布于maxisorp板上,并且所述蛋白质于50mM碳酸盐缓冲液(pH 9.6)中从100 μ g/mL至0 μ g/mL加以滴定

[0450] • 用ELISA洗涤缓冲液(PBS/0.05%吐温-20(TWEEN-20))洗涤3次

[0451] • 添加含2 μ g/mL C1q的测定缓冲液(PBS/0.05%吐温-20/0.1%鱼明胶),并且在室温下孵育2小时

[0452] • 用ELISA洗涤缓冲液(PBS/0.05%吐温-20)洗涤3次

[0453] • 以4 μ g/mL添加抗C1q-HRP抗体(Thermo PA1-84324),并且在室温下孵育1小时

[0454] • 用ELISA洗涤缓冲液(PBS/0.05%吐温-20)洗涤3次

[0455] • TMB,在室温下持续15分钟

[0456] • 读取OD450

[0457] hFc、hFcLALA和IgG4m与C1-INH和rhC1(血浆源性商业产品)抑制剂的融合物的示例性C1q结合ELISA结果描绘于图6中,所述图6相对于各样品中蛋白质的浓度来绘制OD450。样品是hFc IgG1-C1-INH、hFc LALA IgG1-C1-INH和hFc IgG4m-C1-INH融合物、重组人C1-INH(rhC1-INH)(在1080细胞中表达)、以及作为阳性对照的IgG1 Fc-人卵泡抑素(hFc IgG1-hFst-XTEN)融合物和作为阴性对照的人卵泡抑素-Xten(hFst-XTEN)融合物。

[0458] Fc融合蛋白与Fc γ R1的结合

[0459] 使用Biacore系统,通过表面等离子体共振(SPR)测量与Fc γ R1的细胞外结构域的结合。Biacore捕获方法描绘于图7中。测定设置如下:

[0460] HBS-P+用作运行缓冲液

[0461] 使抗His(GE,抗His试剂盒)偶联于CM5上以获得16000Ru

[0462] 捕获水平

[0463] 对于Fc γ RI(5 μ g/mL,R&D system),捕获水平为约350Ru

[0464] 样品制备

[0465] 阳性对照:将N-hFc-C1-INH于HBS-P+缓冲液中稀释至12.5、6.25、3.175、1.59和0.79nM

[0466] 将其它样品(N-hFcIgG4m-C1 Inh、N-hFcIgG4m-C1-INH Tr、N-hFcLala-C1-INH和N-hFcLala-C1-INH Tr)于HBS-P+缓冲液中稀释至100、50、25、12.5、6.25nM

[0467] 结合动力学设置:

[0468] 捕获:以10 μ l/mL注射12s

[0469] 捕获稳定化:30s

[0470] 缔合:以流速30 μ l/mL进行300s

[0471] 解离:以流速30 μ l/mL进行600s

[0472] 再生:以30 μ l/mL用10mM磷酸盐500mM NaCl (pH 2.5) 进行40s

[0473] 说明C1-INH构建体与Fc γ RI的结合的示例性数据的概述显示于表3中。N-hFcLala-C1-INH消除与Fc γ RI的结合。N-hFcIgG4m-C1-INH和N-hFcIgG4m-C1-INH Tr结合Fc γ RI,但弱于N-hFc-C1-INH。截短的C1-INH与hFcLala或hFcIgG4m融合物使与Fc γ RI的结合亲和力增加。

[0474]	样品	ka1 (1/Ms)	kd1 (1/s)	KD
	N-hFc-C1 Inh	2.496E+5	5.277E-4	2.114E-9
	N-hFcLala-C1 Inh	不结合		
	N-hFcLala-C1-INH Tr	1.403E+4	0.001833	1.306E-7
	N-hFcIgG4m-C1 Inh	7.232E+4	0.001673	2.313E-8
	N-hFcIgG4m-C1-INH Tr	1.183E+5	8.616E-4	7.281E-9

[0475] 表3:C1-INH构建体Fc γ RI结合的概述

[0476] C1-抑制剂Fc融合蛋白的C1-抑制剂活性

[0477] C1-抑制剂能够抑制来自凝血、接触和补体途径的许多酶,并且因此适用于治疗诸如HAE、AMR、NMOSD和PNH的疾病。

[0478] C1-INH是一种自杀性抑制剂,这意味着它在抑制过程期间被失活。它与靶标蛋白酶形成1:1化学计量复合物,继之以整个复合物被清除。C1-INH接着不可再用于抑制其它酶。以下实验通过两种示例性方法来考查Fc-C1-抑制剂融合蛋白抑制C1s的能力。

[0479] 采用两种示例性体外方法来考查C1-抑制剂对C1s活性的抑制活性:以基于ELISA的方法(功能性ELISA)测量C1S和C1-抑制剂的复合物-仅对效应物失效构建体使用,以及测量对C1s裂解比色底物的能力的抑制。两种测定产生一致数据。

[0480] 测量C1S和C1-抑制剂的复合物的功能性ELISA

[0481] 这个方法用于测试被制备来进行PK研究的效应物失效Fc构建体,图8。ELISA方案如下:

[0482] • 60 μ L稀释的C1-INH+12 μ L生物素-C1s

[0483] o在室温下孵育30分钟

[0484] • 将50 μ L复合物转移至链霉亲和素涂布的板中

[0485] o在室温下孵育10分钟,洗涤5次

[0486] • 添加50 μ L抗C1-INH-HRP

[0487] o在室温下孵育60分钟,洗涤5次

[0488] • 添加100 μ L TMB底物

[0489] o在室温下孵育15分钟

[0490] • 添加100 μ L终止溶液(4% HCl)

[0491] • 在OD450下进行读取

[0492] 通过凝胶将血浆源性C1-INH分子量(MW)估计为约93,000Da。这个值用于计算SPR分析中使用的蛋白质的浓度。通过如使用质谱测定法测定的各构建体的重量来计算构建体的浓度。FL C1-INH hFc IgG1 LALA和FL C1-INH hFc IgG4m具有约200,000Da的分子量。Tr

C1-INH hFc IgG1 LALA和Tr C1-INH hFc IgG4m具有约160,000Da的分子量。

[0493] 在多个测试中,融合蛋白显示对C1s的亲合力高于天然C1-抑制剂。截短的C1-INH融合蛋白类似地显示对C1s的亲合力高于天然C1-抑制剂。

[0494] 对C1s裂解比色底物的能力的抑制

[0495] 使用R&D systems C1-抑制剂活性测定测试效应物失效构建体抑制由C1s+/-C1-INH对比色肽的C1s裂解的能力。测定方案可见于https://www.rndsystems.com/products/human-serpin-g1-cl-inhibitor-plasma-protein-cf_2488-pi处。

[0496] 每孔最终测定条件:

[0497] • rhC1s:0.010 μ g (1.33nM)

[0498] • 人丝氨酸蛋白酶抑制剂G1曲线:100、50、25、5、2.5、1.25、0.625、0.2、0.04和0.01nM

[0499] • 底物:100 μ M

[0500] • DTNB:100 μ M

[0501] 活性测定设置

[0502] 25 μ L C1-抑制剂+25 μ L C1s (2 μ g/mL)

[0503] 在室温下孵育30分钟

[0504] 用测定缓冲液将复合物稀释5倍

[0505] 50 μ L稀释的C1-INH-C1s复合物+50 μ L底物 (500uM)/反应物 (200uM)

[0506] 在室温下孵育15分钟

[0507] 在OD405下进行读取

[0508] 使用质谱或凝胶分子量估计值计算测定中测试的各效应物失效构建体的滴定曲线,如图9A和9B中所示。全长融合蛋白显示对C1s的亲合力高于天然C1-抑制剂。截短的C1-INH融合蛋白类似地显示对C1s的亲合力高于天然C1-抑制剂。

[0509] 溶血测定

[0510] 图10A和10B描绘替代性补体途径和经典补体途径的溶血测定的示意性概述。Seelen等,J.of Immun.Methods,296:187-198 (2005)。图11A、11B和11C描绘由血浆源性C1-INH、IgG1 LALA Fc截短的C1-抑制剂、IgG1 LALA全长C1-抑制剂以及两种血浆源性C1-INH制剂展现的溶血活性(例如替代性补体途径的活化程度)的比较。融合蛋白的表现类似于血浆源性C1抑制剂。

[0511] C1-抑制剂Fc融合蛋白活性的概述

[0512] 所有Fc-C1-抑制剂融合蛋白都能够抑制C1s活性。Fc融合蛋白,特别是全长C1-抑制剂融合蛋白抑制C1s的亲合力始终高于血浆源性C1-抑制剂。全长C1-抑制剂融合蛋白与截短的C1-抑制剂融合蛋白(例如以Fc IgG1 LALA制备)两者均能够抑制体外红血细胞的溶解。

[0513] Fc融合蛋白的体内PK曲线

[0514] 图12显示效应物失效融合构建体相较于血浆源性C1-抑制剂和重组C1-INH的兔PK研究的示例性结果。通过静脉内施用的血浆源性C1-INH展现单相血清浓度-时间曲线。通过静脉内施用的rhC1-INH-IgG构建体展现双相血清浓度-时间曲线。初始快速清除相(约2小时)指示受体介导的细胞摄取。构建体展现第二较缓慢清除相。

[0515] 实施例3.白蛋白融合蛋白

[0516] A.白蛋白-C1-抑制剂融合物表达构建体

[0517] 产生许多白蛋白蛋白构建体。这些构建体的示意图描绘于图13A-F中。制备包含白蛋白或白蛋白的D3结构域直接接合于全长C1-INH和截短的C1-INH的N末端的融合构建体表达载体。也制备包含白蛋白或白蛋白的D3结构域使用接头接合于全长C1-INH和截短的C1-INH的N末端的融合构建体表达载体。由这些构建体表达的融合蛋白的氨基酸序列包括以下序列：

[0518] 白蛋白全长C1-INH直接融合物(白蛋白结构域加下划线)：

MKWVTFISLLFLFSSAYSSRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK
QEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP
ELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA
FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQ
DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL
GMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYKTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
NLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAK
RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN
[0519] AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKA
DDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLNPNATSSSSQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVE
PILEVSSLPTTNSTTNSATKITANTTDEPTTQPTTEPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTG
SFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQ
VLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNAS
RTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWK
TTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILV
PQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFF
DFSYDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTVLELTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFL
FVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:18).

[0520] 白蛋白截短的C1-INH直接融合物(白蛋白结构域加下划线)：

MKWVTFISLLFLFSSAYSSRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLNVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK
QEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP
ELLFFAKRYKAAFTTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA
FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQ
DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL
GMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYKTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
NLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAK
[0521] RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN
AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKA
DDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLY
HAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFT
TKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKIS
RLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAH
FIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFS
YDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTVLELTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQ
QHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:19).

[0522] D3白蛋白全长C1-INH直接融合物(D3白蛋白结构域加下划线)：

[0523] METPAQLLFLLLLWLPDTTGVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS
TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC
TESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKP
KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLNPNATSSSS
QDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTNSTTNSATKITANTTDEPTTQPTT
EPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKL
YHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKG
FTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNN
KISRLDLSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYP
VAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSK
FQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLNLCLGLTEDPDLQVSAMQHQTVLELT
ETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:21).

[0524] D3白蛋白截短的C1-INH直接融合物(D3白蛋白结构域加下划线):

[0525] METPAQLLFLLLLWLPDTTGVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS
TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC
TESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKP
KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGSFCPGPVT
LCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGE
NTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSP
RVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDLSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKK
TRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHR
LEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSFDLNL
LCGLTEDPDLQVSAMQHQTVLELTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQ
QHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:22).

[0526] 白蛋白全长C1-INH GGG接头融合物(白蛋白结构域加下划线,接头用粗体表示):

[0527] MKWVTFISLLFLFSSAYSSRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLOQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK
QEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP
ELLFFAKRYKAAFTECQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA
FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVDTLTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQ
DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL
GMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYKTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
NLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAK
RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN
AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKA
DDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGGGNPNATSSSSQDPESLQDRGEGKVATTVISK
MLFVEPILEVSSLPTNSTTNSATKITANTTDEPTTQPTTEPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQ
PTTGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIAS
LLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFV
NASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLDLSLPSDTRLVLLNAIYLSA
KWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSL
VILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEK
LEFFDFSFDLNLCLGLTEDPDLQVSAMQHQTVLELTETGVEAAAASAVISVARTLLVFEVQ
QPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:23).

[0528] 白蛋白截短的C1-INH GGG接头融合物(白蛋白结构域加下划线,接头用粗体表示):

[0529]

MKWVTFISLLFLSSAYSSRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFAQYLQQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK
QEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP
ELLFFAKRYKAAFECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA
FKAWAVARLSQRFPKAEFAEVSKLVTDLTTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENO
DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVF
GMFLYEYARRHPDYSVVLLRLAKTYKTTLEKCCAAADPHECYAKVDEFKPLVEEPQ
NLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAK
RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN
AETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKKA
DDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGGGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSL
KLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQAL
KGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNT
NNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKK
YPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEM
SKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSYDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTVLE
LTETGVEAAAAAISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:24).

[0530] D3白蛋白全长C1-INH GGG接头融合物(D3白蛋白结构域加下划线,接头用粗体表示):

[0531]

METPAQLLFLLLLWLPDTTGVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS
TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC
TESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKP
KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGGGNPNATS
SSSQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNSTTNSATKITANTTDEPTTQP
TTEPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLK
LYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALK
GFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTN
NKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKY
PVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMS
KFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSYDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTVLEL
TETGVEAAAAAISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:25).

[0532] D3白蛋白截短的C1-INH GGG接头融合物(D3白蛋白结构域加下划线,接头用粗体表示):

[0533]

METPAQLLFLLLLWLPDTTGVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS
TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC
TESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKP
KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGGGSFCPG
PVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLG
AGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYS
SSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFD
PKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLK
HRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSQDMLSIMEKLEFFDFSYD
LNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTVLELTETGVEAAAAAISVARTLLVFEVQQPFLFVLWD
QQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:26).

[0534] 白蛋白全长C1-INH(GGGGS)2接头融合物(白蛋白结构域加下划线):

[0535]

MKWVTFISLLFLFSSAYSSRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFQYLQOQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK
QEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP
ELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA
FKAWAVARLSQRFPKAAEFAEVSKLVTDLTTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQ
DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL
GMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYKTTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
NLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAK
RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN
AETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKA
DDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGGGGSGGGGSNPNATSSSSQDPESLQDRGEGKV
ATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNSTTNSATKITANTTDEPTTQPTTEPTTQPTIQPTQPTTQ
LPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNM
AFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSP
DLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLV
LLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQ
LQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTT
QDMLSIMEKLEFFDFSYDLNLCGLTEDPDLQVSAMQHQTVLELTETGVEAAAASAISVA
RTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPR (SEQ ID NO:28).

[0536] 白蛋白截短的C1-INH (GGGGS) 2接头融合物 (白蛋白结构域加下划线, 接头用粗体表示):

[0537]

MKWVTFISLLFLFSSAYSSRGVFRRDAHKSEVAHRFKDLGEENFKALVLIAFQYLQOQCP
FEDHVKLVNEVTEFAKTCVADESAENCDKSLHTLFGDKLCTVATLRETYGEMADCCAK
QEPERNECFLQHKDDNPNLPRLVRPEVDVMCTAFHDNEETFLKKYLYEIARRHPYFYAP
ELLFFAKRYKAAFTECCQAADKAACLLPKLDELRDEGKASSAKQRLKCASLQKFGERA
FKAWAVARLSQRFPKAAEFAEVSKLVTDLTTKVHTECCHGDLLECADDRADLAKYICENQ
DSISSKLKECCEKPLLEKSHCIAEVENDEMPADLPSLAADFVESKDVCKNYAEAKDVFL
GMFLYEYARRHPDYSVVLLLRLAKTYKTTTLEKCCAAADPHECYAKVFDEFKPLVEEPQ
NLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVSTPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAK
RMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCCTESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFN
AETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKPKATKEQLKAVMDDFAAFVEKCCKA
DDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGGGGSGGGGSGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLG
DALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDF
TCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINT
WVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVP
MMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKA
IMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTQDMLSIMEKLEFFDFSYDLNLCGLTEDPDLQVSAM
QHQTVLELTETGVEAAAASAISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPR
A (SEQ ID NO:29).

[0538] D3白蛋白全长C1-INH (GGGGS) 2接头融合物 (D3白蛋白结构域加下划线, 接头用粗体表示):

[0539]

METPAQLLFLLLLWLPDTTGVEEPQNLIKQNCELFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS
TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC
TESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKQTALVELVKHKP
KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKADDKETCFAEEGKKLVAASRAALGLGGGGSGGG
GSNPNATSSSSQDPESLQDRGEGKVATTVISKMLFVEPILEVSSLPTTNSTTNSATKITAN
TTDEPTTQPTTEPTTQPTIQPTQPTTQLPTDSPTQPTTGSFCPGPVTLCSDLESHSTEAVLG
DALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASLLTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDF
TCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFVNASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINT
WVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSAKWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVP
MMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSLVILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKA
IMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTQDMLSIMEKLEFFDFSYDLNLCGLTEDPDLQVSAM
QHQTVLELTETGVEAAAASAISVARTLLVFEVQQPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPR
A (SEQ ID NO:30).

[0540] D3白蛋白截短的C1-INH(GGGGS)2接头融合物(D3白蛋白结构域加下划线):

METPAQLLFLLLLWLPDTTGVEEPQNLIKQNCLEFEQLGEYKFQNALLVRYTKKVPQVS
TPTLVEVSRNLGKVGSKCKHPEAKRMPCAEDYLSVVLNQLCVLHEKTPVSDRVTKCC
TESLVNRRPCFSALEVDETYVPKEFNAETFTFHADICTLSEKERQIKKQTALVELVKHKP
KATKEQLKAVMDDFAAFVEKCKCKADDKETCFAEKGKLVAAASRAALGLGGGSGGG
GSGSFCPGPVTLCSDLSEHSTEAVLGDALVDFSLKLYHAFSAMKKVETNMAFSPFSIASL
[0541] LTQVLLGAGENTKTNLESILSYPKDFTCVHQALKGFTTKGVTSVSQIFHSPDLAIRDTFV
NASRTLYSSSPRVLSNNSDANLELINTWVAKNTNNKISRLLDSLPSDTRLVLLNAIYLSA
KWKTTFDPKKTRMEPFHFKNSVIKVPMMNSKKYPVAHFIDQTLKAKVGQLQLSHNLSL
VILVPQNLKHRLEDMEQALSPSVFKAIMEKLEMSKFQPTLLTLPRIKVTTSDMLSIMK
LEFFDFSFDLNLCLGLTEDPDLQVSAMQHQTIVLELTETGVEAAAASISVARTLLVFEVQ
QPFLFVLWDQQHKFPVFMGRVYDPRA (SEQ ID NO:31).

[0542] B. 白蛋白融合蛋白的表达

[0543] 如上所述用这些融合构建体表达载体转染FreeStyle™CHO-S细胞。制备CHO-GS稳定汇合物,并且用于产生供收集和分析的CM。以 2×10^6 个细胞/毫升接种细胞,并且在33℃下孵育4天。在第3天补充谷氨酰胺。

[0544] 在转染后4天收获来自转染的细胞培养物的条件培养基(CM),并且在考马斯凝胶上跑胶以评估表达。使用50kDa **Vivaspin**®20离心浓缩器(Vivaproducts, Inc., 目录号VS2031)浓缩第4天的分批收获物,并且使用Invitrogen的CaptureSelect白蛋白亲和基质(Invitrogen, 目录号19129701L)加以纯化。洗脱缓冲液是20mM Tris pH 7.4+2M $MgCl_2$ 。在考马斯凝胶上相对于BSA使样品跑胶以评估表达。

[0545] 基于这个纯化,HSA-C1-INH的产量是约3.6mg/L,并且D3-C1-INH的产量是约1.6mg/L。使用50kDa **Vivaspin**®将蛋白质浓缩至约2mg/mL,并且储存在-20℃下。将纯化的蛋白质过夜透析至C1-Inh配制缓冲液(50mM Tris (pH 7.2)、50mM山梨糖醇、150mM甘氨酸)中并浓缩。

[0546] 检查蛋白质的C1s活性。数据显示于图14中,所述图14呈现用以测量一些示例性白蛋白C1-INH融合构建体抑制C1s裂解比色肽的能力的测定的结果,包括血浆源性C1-INH和HT1080表达的重组C1-INH以进行比较。

[0547] 在SEC-MALS上运行蛋白质以检查聚集和测定尺寸。测定的示例性参数是:

[0548] 柱:Tosoh G3000swx1

[0549] 流动相缓冲液:0.2M磷酸钠,pH 6.8

[0550] 流速:0.5mL/min

[0551] 样品:

[0552] HSAD3 C1-INH,注射30μg

[0553] HSAC1-INH,注射35μg

[0554] BSA对照,注射40μg

[0555] C1-INH IgG1 LALAFc,以35μg进行注射

[0556] 使用对于293C1-INH样品开发的SEC方法,对HSA-C1-INH分子使用SEC-MALS测定。使用这种方法,未检测到HSA样品中的大分子量分子。

[0557] 接着对C1-抑制剂白蛋白融合蛋白进行动态光散射(DLS)分析。HSA和C1-INH C46用作对照。所有样品和对照都于DPBS缓冲液中稀释成0.5mg/mL。C1-抑制剂白蛋白融合蛋白

的示例性DLS结果显示于表4中。

[0558]	样品	mg/mL
	HSA	5
	C46 C1-INH	2.5
	HSA-GGG-C1-INH CHO-GNE	3.5
	D3-GGG-C1-INH CHO-GNE	8
	D3-GGGGS-C1-INH CHO-GNE	3.4

[0559] 表4:对C1-抑制剂白蛋白融合蛋白的DLS分析

[0560] 使用Invitrogen CaptureSelect人白蛋白亲和基质从CHO-GS CM纯化HSA-C1-INH以及HSA_D3-C1-INH两者均适用。纯化的蛋白质与血浆源性C1-INH具有类似C1s活性。SEC-MALS显示仅有处于预期尺寸下的单一峰而不具有HMW物质。

[0561] 产生表达白蛋白-C1-INH+/-接头构建体的稳定汇合物。通过遵循制造商方案进行电穿孔来转染CHO-GS GNE细胞。选择稳定汇合物,并且在33℃下进行7天分批收获物产生。通过考马斯凝胶来评估分批收获物的表达。考马斯结果显示相比于HSA_D3融合物,全长HSA-C1-INH融合蛋白显示较小程度表达。在添加接头序列的情况下未见显著差异。

[0562] 等效案和范围

[0563] 本领域技术人员将仅使用常规实验即会认识到或能够确定本文所述的本发明的特定实施方案的许多等效案。本发明的范围不意图限于以上描述,而是如以下权利要求中所阐述。

[0001]	序列表															
[0002]	<110> 武田药品工业株式会社															
[0003]	<120> C1酯酶抑制剂融合蛋白及其用途															
[0004]	<130> 2006685-1208															
[0005]	<140> PCT/US2015/058521															
[0006]	<141> 2015-10-31															
[0007]	<150> 62/073,657															
[0008]	<151> 2014-10-31															
[0009]	<160> 38															
[0010]	<170> PatentIn version 3.5															
[0011]	<210> 1															
[0012]	<211> 478															
[0013]	<212> PRT															
[0014]	<213> 智人															
[0015]	<400> 1															
[0016]	Asn	Pro	Asn	Ala	Thr	Ser	Ser	Ser	Ser	Gln	Asp	Pro	Glu	Ser	Leu	Gln
[0017]	1				5					10					15	
[0018]	Asp	Arg	Gly	Glu	Gly	Lys	Val	Ala	Thr	Thr	Val	Ile	Ser	Lys	Met	Leu
[0019]				20					25					30		
[0020]	Phe	Val	Glu	Pro	Ile	Leu	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Pro	Thr	Thr	Asn	Ser
[0021]			35					40					45			
[0022]	Thr	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn	Thr	Thr	Asp	Glu	Pro
[0023]		50					55					60				
[0024]	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Ile	Gln	Pro
[0025]	65					70					75				80	
[0026]	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gln	Leu	Pro	Thr	Asp	Ser	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr
[0027]				85						90					95	
[0028]	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp	Leu	Glu
[0029]				100					105					110		
[0030]	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Phe	Ser
[0031]			115						120					125		
[0032]	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu	Thr	Asn
[0033]		130					135					140				
[0034]	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Val	Leu
[0035]	145					150					155				160	
[0036]	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser
[0037]				165						170					175	
[0038]	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Phe	Thr

[0039]	180							185					190						
[0040]	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser	Pro	Asp	Leu			
[0041]	195							200					205						
[0042]	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu	Tyr	Ser	Ser			
[0043]	210							215					220						
[0044]	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu	Glu	Leu	Ile			
[0045]	225							230					235					240	
[0046]	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser	Arg	Leu	Leu			
[0047]	245							250					255						
[0048]	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile	Tyr			
[0049]	260							265					270						
[0050]	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys	Thr	Arg	Met			
[0051]	275							280					285						
[0052]	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro	Met	Met	Asn			
[0053]	290							295					300						
[0054]	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr	Leu	Lys	Ala			
[0055]	305							310					315					320	
[0056]	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Leu			
[0057]	325							330					335						
[0058]	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu	Gln	Ala	Leu			
[0059]	340							345					350						
[0060]	Ser	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Met	Ser	Lys			
[0061]	355							360					365						
[0062]	Phe	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val	Thr	Thr	Ser			
[0063]	370							375					380						
[0064]	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe	Phe	Asp	Phe	Ser			
[0065]	385							390					395					400	
[0066]	Tyr	Asp	Leu	Asn	Leu	Cys	Gly	Leu	Thr	Glu	Asp	Pro	Asp	Leu	Gln	Val			
[0067]	405							410					415						
[0068]	Ser	Ala	Met	Gln	His	Gln	Thr	Val	Leu	Glu	Leu	Thr	Glu	Thr	Gly	Val			
[0069]	420							425					430						
[0070]	Glu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ser	Ala	Ile	Ser	Val	Ala	Arg	Thr	Leu	Leu	Val			
[0071]	435							440					445						
[0072]	Phe	Glu	Val	Gln	Gln	Pro	Phe	Leu	Phe	Val	Leu	Trp	Asp	Gln	Gln	His			
[0073]	450							455					460						
[0074]	Lys	Phe	Pro	Val	Phe	Met	Gly	Arg	Val	Tyr	Asp	Pro	Arg	Ala					
[0075]	465							470					475						
[0076]	<210> 2																		
[0077]	<211> 381																		

[0078]	<212> PRT															
[0079]	<213> 智人															
[0080]	<400> 2															
[0081]	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp	Leu	Glu	Ser
[0082]	1				5					10					15	
[0083]	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Phe	Ser	Leu
[0084]				20					25					30		
[0085]	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu	Thr	Asn	Met
[0086]				35					40					45		
[0087]	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Val	Leu	Leu
[0088]		50					55						60			
[0089]	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Tyr
[0090]	65					70					75				80	
[0091]	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Phe	Thr	Thr
[0092]				85					90					95		
[0093]	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser	Pro	Asp	Leu	Ala
[0094]				100					105					110		
[0095]	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu	Tyr	Ser	Ser	Ser
[0096]				115					120					125		
[0097]	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu	Glu	Leu	Ile	Asn
[0098]		130						135					140			
[0099]	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser	Arg	Leu	Leu	Asp
[0100]	145					150					155				160	
[0101]	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile	Tyr	Leu
[0102]				165						170				175		
[0103]	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys	Thr	Arg	Met	Glu
[0104]				180						185				190		
[0105]	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro	Met	Met	Asn	Ser
[0106]				195					200					205		
[0107]	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr	Leu	Lys	Ala	Lys
[0108]		210						215					220			
[0109]	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Leu	Val
[0110]	225					230					235				240	
[0111]	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu	Gln	Ala	Leu	Ser
[0112]				245						250					255	
[0113]	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Met	Ser	Lys	Phe
[0114]				260						265				270		
[0115]	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val	Thr	Thr	Ser	Gln
[0116]				275					280					285		

[0117]	Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe Phe Asp Phe Ser Tyr
[0118]	290 295 300
[0119]	Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp Leu Gln Val Ser
[0120]	305 310 315 320
[0121]	Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu Thr Gly Val Glu
[0122]	325 330 335
[0123]	Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr Leu Leu Val Phe
[0124]	340 345 350
[0125]	Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp Gln Gln His Lys
[0126]	355 360 365
[0127]	Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg Ala
[0128]	370 375 380
[0129]	<210> 3
[0130]	<211> 227
[0131]	<212> PRT
[0132]	<213> 智人
[0133]	<400> 3
[0134]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[0135]	1 5 10 15
[0136]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[0137]	20 25 30
[0138]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[0139]	35 40 45
[0140]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[0141]	50 55 60
[0142]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[0143]	65 70 75 80
[0144]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[0145]	85 90 95
[0146]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[0147]	100 105 110
[0148]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[0149]	115 120 125
[0150]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[0151]	130 135 140
[0152]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[0153]	145 150 155 160
[0154]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[0155]	165 170 175

[0156]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[0157]				180					185					190		
[0158]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[0159]				195				200					205			
[0160]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[0161]		210					215					220				
[0162]	Pro	Gly	Lys													
[0163]	225															
[0164]	<210>	4														
[0165]	<211>	227														
[0166]	<212>	PRT														
[0167]	<213>	智人														
[0168]	<400>	4														
[0169]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
[0170]	1			5					10					15		
[0171]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
[0172]				20				25					30			
[0173]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[0174]			35					40					45			
[0175]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[0176]		50					55					60				
[0177]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[0178]	65					70					75				80	
[0179]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[0180]					85				90					95		
[0181]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
[0182]				100					105					110		
[0183]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[0184]			115					120					125			
[0185]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[0186]		130					135						140			
[0187]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[0188]	145					150					155					160
[0189]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[0190]				165					170						175	
[0191]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[0192]				180					185					190		
[0193]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[0194]				195				200					205			

[0195]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[0196]	210 215 220
[0197]	Pro Gly Lys
[0198]	225
[0199]	<210> 5
[0200]	<211> 227
[0201]	<212> PRT
[0202]	<213> 智人
[0203]	<400> 5
[0204]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
[0205]	1 5 10 15
[0206]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[0207]	20 25 30
[0208]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[0209]	35 40 45
[0210]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[0211]	50 55 60
[0212]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[0213]	65 70 75 80
[0214]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[0215]	85 90 95
[0216]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[0217]	100 105 110
[0218]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[0219]	115 120 125
[0220]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[0221]	130 135 140
[0222]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[0223]	145 150 155 160
[0224]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[0225]	165 170 175
[0226]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[0227]	180 185 190
[0228]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[0229]	195 200 205
[0230]	His Glu Ala Leu Lys Phe His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[0231]	210 215 220
[0232]	Pro Gly Lys
[0233]	225

[0234]	<210> 6
[0235]	<211> 227
[0236]	<212> PRT
[0237]	<213> 智人
[0238]	<400> 6
[0239]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
[0240]	1 5 10 15
[0241]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[0242]	20 25 30
[0243]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[0244]	35 40 45
[0245]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[0246]	50 55 60
[0247]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[0248]	65 70 75 80
[0249]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[0250]	85 90 95
[0251]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[0252]	100 105 110
[0253]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[0254]	115 120 125
[0255]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[0256]	130 135 140
[0257]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[0258]	145 150 155 160
[0259]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[0260]	165 170 175
[0261]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[0262]	180 185 190
[0263]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[0264]	195 200 205
[0265]	His Glu Ala Leu Lys Phe His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[0266]	210 215 220
[0267]	Pro Gly Lys
[0268]	225
[0269]	<210> 7
[0270]	<211> 247
[0271]	<212> PRT
[0272]	<213> 人造序列

[0273]	<220>
[0274]	<223> 人造序列描述:合成多肽
[0275]	<400> 7
[0276]	Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
[0277]	1 5 10 15
[0278]	Asp Thr Thr Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
[0279]	20 25 30
[0280]	Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
[0281]	35 40 45
[0282]	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
[0283]	50 55 60
[0284]	Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
[0285]	65 70 75 80
[0286]	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
[0287]	85 90 95
[0288]	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
[0289]	100 105 110
[0290]	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
[0291]	115 120 125
[0292]	Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
[0293]	130 135 140
[0294]	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
[0295]	145 150 155 160
[0296]	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
[0297]	165 170 175
[0298]	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
[0299]	180 185 190
[0300]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
[0301]	195 200 205
[0302]	Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
[0303]	210 215 220
[0304]	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu Lys Phe His Tyr Thr Gln Lys Ser
[0305]	225 230 235 240
[0306]	Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0307]	245
[0308]	<210> 8
[0309]	<211> 247
[0310]	<212> PRT
[0311]	<213> 人造序列

[0312]	<220>
[0313]	<223> 人造序列描述:合成多肽
[0314]	<400> 8
[0315]	Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
[0316]	1 5 10 15
[0317]	Asp Thr Thr Gly Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
[0318]	20 25 30
[0319]	Glu Ala Ala Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
[0320]	35 40 45
[0321]	Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
[0322]	50 55 60
[0323]	Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp
[0324]	65 70 75 80
[0325]	Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr
[0326]	85 90 95
[0327]	Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
[0328]	100 105 110
[0329]	Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu
[0330]	115 120 125
[0331]	Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
[0332]	130 135 140
[0333]	Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys
[0334]	145 150 155 160
[0335]	Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
[0336]	165 170 175
[0337]	Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
[0338]	180 185 190
[0339]	Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
[0340]	195 200 205
[0341]	Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
[0342]	210 215 220
[0343]	Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu Lys Phe His Tyr Thr Gln Lys Ser
[0344]	225 230 235 240
[0345]	Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0346]	245
[0347]	<210> 9
[0348]	<211> 229
[0349]	<212> PRT
[0350]	<213> 智人

[0351]	<400> 9
[0352]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
[0353]	1 5 10 15
[0354]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[0355]	20 25 30
[0356]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[0357]	35 40 45
[0358]	Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[0359]	50 55 60
[0360]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
[0361]	65 70 75 80
[0362]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[0363]	85 90 95
[0364]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
[0365]	100 105 110
[0366]	Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[0367]	115 120 125
[0368]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
[0369]	130 135 140
[0370]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[0371]	145 150 155 160
[0372]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[0373]	165 170 175
[0374]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
[0375]	180 185 190
[0376]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[0377]	195 200 205
[0378]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
[0379]	210 215 220
[0380]	Leu Ser Leu Gly Lys
[0381]	225
[0382]	<210> 10
[0383]	<211> 229
[0384]	<212> PRT
[0385]	<213> 人造序列
[0386]	<220>
[0387]	<223> 人造序列描述:合成多肽
[0388]	<400> 10
[0389]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe

[0390]	1	5	10	15
[0391]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
[0392]	20	25	30	
[0393]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
[0394]	35	40	45	
[0395]	Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
[0396]	50	55	60	
[0397]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser			
[0398]	65	70	75	80
[0399]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			
[0400]	85	90	95	
[0401]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser			
[0402]	100	105	110	
[0403]	Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro			
[0404]	115	120	125	
[0405]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln			
[0406]	130	135	140	
[0407]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala			
[0408]	145	150	155	160
[0409]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr			
[0410]	165	170	175	
[0411]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu			
[0412]	180	185	190	
[0413]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser			
[0414]	195	200	205	
[0415]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser			
[0416]	210	215	220	
[0417]	Leu Ser Leu Gly Lys			
[0418]	225			
[0419]	<210> 11			
[0420]	<211> 705			
[0421]	<212> PRT			
[0422]	<213> 人造序列			
[0423]	<220>			
[0424]	<223> 人造序列描述:合成多肽			
[0425]	<400> 11			
[0426]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly			
[0427]	1	5	10	15
[0428]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met			

[0429]	20							25							30													
[0430]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His												
[0431]	35							40							45													
[0432]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val												
[0433]	50							55							60													
[0434]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr												
[0435]	65							70							75							80						
[0436]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly												
[0437]	85							90							95													
[0438]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile												
[0439]	100							105							110													
[0440]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val												
[0441]	115							120							125													
[0442]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser												
[0443]	130							135							140													
[0444]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu												
[0445]	145							150							155							160						
[0446]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro												
[0447]	165							170							175													
[0448]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val												
[0449]	180							185							190													
[0450]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met												
[0451]	195							200							205													
[0452]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser												
[0453]	210							215							220													
[0454]	Pro	Gly	Lys	Asn	Pro	Asn	Ala	Thr	Ser	Ser	Ser	Ser	Gln	Asp	Pro	Glu												
[0455]	225							230							235							240						
[0456]	Ser	Leu	Gln	Asp	Arg	Gly	Glu	Gly	Lys	Val	Ala	Thr	Thr	Val	Ile	Ser												
[0457]	245							250							255													
[0458]	Lys	Met	Leu	Phe	Val	Glu	Pro	Ile	Leu	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Pro	Thr												
[0459]	260							265							270													
[0460]	Thr	Asn	Ser	Thr	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn	Thr	Thr												
[0461]	275							280							285													
[0462]	Asp	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr												
[0463]	290							295							300													
[0464]	Ile	Gln	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gln	Leu	Pro	Thr	Asp	Ser	Pro	Thr												
[0465]	305							310							315							320						
[0466]	Gln	Pro	Thr	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser												
[0467]	325							330							335													

[0468]	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val
[0469]				340					345					350		
[0470]	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val
[0471]				355					360					365		
[0472]	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr
[0473]				370					375					380		
[0474]	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser
[0475]		385					390					395				400
[0476]	Ile	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys
[0477]					405					410					415	
[0478]	Gly	Phe	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser
[0479]					420					425					430	
[0480]	Pro	Asp	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu
[0481]				435						440					445	
[0482]	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu
[0483]			450					455					460			
[0484]	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser
[0485]		465					470					475				480
[0486]	Arg	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn
[0487]					485					490						495
[0488]	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys
[0489]				500						505					510	
[0490]	Thr	Arg	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro
[0491]				515						520					525	
[0492]	Met	Met	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr
[0493]			530						535					540		
[0494]	Leu	Lys	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu
[0495]		545					550					555				560
[0496]	Val	Ile	Leu	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu
[0497]					565					570					575	
[0498]	Gln	Ala	Leu	Ser	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu
[0499]					580					585					590	
[0500]	Met	Ser	Lys	Phe	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val
[0501]				595						600					605	
[0502]	Thr	Thr	Ser	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe	Phe
[0503]				610						615					620	
[0504]	Asp	Phe	Ser	Tyr	Asp	Leu	Asn	Leu	Cys	Gly	Leu	Thr	Glu	Asp	Pro	Asp
[0505]		625					630					635				640
[0506]	Leu	Gln	Val	Ser	Ala	Met	Gln	His	Gln	Thr	Val	Leu	Glu	Leu	Thr	Glu

[0507]		645		650		655
[0508]	Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr					
[0509]		660		665		670
[0510]	Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp					
[0511]		675		680		685
[0512]	Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg					
[0513]		690		695		700
[0514]	Ala					
[0515]	705					
[0516]	<210> 12					
[0517]	<211> 608					
[0518]	<212> PRT					
[0519]	<213> 人造序列					
[0520]	<220>					
[0521]	<223> 人造序列描述:合成多肽					
[0522]	<400> 12					
[0523]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly					
[0524]	1	5		10		15
[0525]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met					
[0526]		20		25		30
[0527]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His					
[0528]		35		40		45
[0529]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val					
[0530]		50		55		60
[0531]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr					
[0532]	65		70		75	80
[0533]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly					
[0534]		85		90		95
[0535]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile					
[0536]		100		105		110
[0537]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val					
[0538]		115		120		125
[0539]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser					
[0540]		130		135		140
[0541]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu					
[0542]	145		150		155	160
[0543]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro					
[0544]		165		170		175
[0545]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val					

[0546]	180						185						190					
[0547]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met		
[0548]	195						200						205					
[0549]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser		
[0550]	210						215						220					
[0551]	Pro	Gly	Lys	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp		
[0552]	225						230						235				240	
[0553]	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp		
[0554]	245						250						255					
[0555]	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu		
[0556]	260						265						270					
[0557]	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln		
[0558]	275						280						285					
[0559]	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile		
[0560]	290						295						300					
[0561]	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly		
[0562]	305						310						315				320	
[0563]	Phe	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser	Pro		
[0564]	325						330						335					
[0565]	Asp	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu	Tyr		
[0566]	340						345						350					
[0567]	Ser	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu	Glu		
[0568]	355						360						365					
[0569]	Leu	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser	Arg		
[0570]	370						375						380					
[0571]	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Ala		
[0572]	385						390						395				400	
[0573]	Ile	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys	Thr		
[0574]	405						410						415					
[0575]	Arg	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro	Met		
[0576]	420						425						430					
[0577]	Met	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr	Leu		
[0578]	435						440						445					
[0579]	Lys	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu	Val		
[0580]	450						455						460					
[0581]	Ile	Leu	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu	Gln		
[0582]	465						470						475				480	
[0583]	Ala	Leu	Ser	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Met		
[0584]	485						490						495					

[0585]	Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys Val Thr
[0586]	500 505 510
[0587]	Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe Phe Asp
[0588]	515 520 525
[0589]	Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp Leu
[0590]	530 535 540
[0591]	Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu Thr
[0592]	545 550 555 560
[0593]	Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr Leu
[0594]	565 570 575
[0595]	Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp Gln
[0596]	580 585 590
[0597]	Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg Ala
[0598]	595 600 605
[0599]	<210> 13
[0600]	<211> 705
[0601]	<212> PRT
[0602]	<213> 人造序列
[0603]	<220>
[0604]	<223> 人造序列描述:合成多肽
[0605]	<400> 13
[0606]	Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly
[0607]	1 5 10 15
[0608]	Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met
[0609]	20 25 30
[0610]	Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His
[0611]	35 40 45
[0612]	Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val
[0613]	50 55 60
[0614]	His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr
[0615]	65 70 75 80
[0616]	Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly
[0617]	85 90 95
[0618]	Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile
[0619]	100 105 110
[0620]	Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val
[0621]	115 120 125
[0622]	Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser
[0623]	130 135 140

[0624]	Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu
[0625]	145 150 155 160
[0626]	Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro
[0627]	165 170 175
[0628]	Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val
[0629]	180 185 190
[0630]	Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
[0631]	195 200 205
[0632]	His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
[0633]	210 215 220
[0634]	Pro Gly Lys Asn Pro Asn Ala Thr Ser Ser Ser Ser Gln Asp Pro Glu
[0635]	225 230 235 240
[0636]	Ser Leu Gln Asp Arg Gly Glu Gly Lys Val Ala Thr Thr Val Ile Ser
[0637]	245 250 255
[0638]	Lys Met Leu Phe Val Glu Pro Ile Leu Glu Val Ser Ser Leu Pro Thr
[0639]	260 265 270
[0640]	Thr Asn Ser Thr Thr Asn Ser Ala Thr Lys Ile Thr Ala Asn Thr Thr
[0641]	275 280 285
[0642]	Asp Glu Pro Thr Thr Gln Pro Thr Thr Glu Pro Thr Thr Gln Pro Thr
[0643]	290 295 300
[0644]	Ile Gln Pro Thr Gln Pro Thr Thr Gln Leu Pro Thr Asp Ser Pro Thr
[0645]	305 310 315 320
[0646]	Gln Pro Thr Thr Gly Ser Phe Cys Pro Gly Pro Val Thr Leu Cys Ser
[0647]	325 330 335
[0648]	Asp Leu Glu Ser His Ser Thr Glu Ala Val Leu Gly Asp Ala Leu Val
[0649]	340 345 350
[0650]	Asp Phe Ser Leu Lys Leu Tyr His Ala Phe Ser Ala Met Lys Lys Val
[0651]	355 360 365
[0652]	Glu Thr Asn Met Ala Phe Ser Pro Phe Ser Ile Ala Ser Leu Leu Thr
[0653]	370 375 380
[0654]	Gln Val Leu Leu Gly Ala Gly Glu Asn Thr Lys Thr Asn Leu Glu Ser
[0655]	385 390 395 400
[0656]	Ile Leu Ser Tyr Pro Lys Asp Phe Thr Cys Val His Gln Ala Leu Lys
[0657]	405 410 415
[0658]	Gly Phe Thr Thr Lys Gly Val Thr Ser Val Ser Gln Ile Phe His Ser
[0659]	420 425 430
[0660]	Pro Asp Leu Ala Ile Arg Asp Thr Phe Val Asn Ala Ser Arg Thr Leu
[0661]	435 440 445
[0662]	Tyr Ser Ser Ser Pro Arg Val Leu Ser Asn Asn Ser Asp Ala Asn Leu

[0663]	450	455	460
[0664]	Glu Leu Ile Asn Thr Trp Val Ala Lys Asn Thr Asn Asn Lys Ile Ser		
[0665]	465	470	475 480
[0666]	Arg Leu Leu Asp Ser Leu Pro Ser Asp Thr Arg Leu Val Leu Leu Asn		
[0667]	485	490	495
[0668]	Ala Ile Tyr Leu Ser Ala Lys Trp Lys Thr Thr Phe Asp Pro Lys Lys		
[0669]	500	505	510
[0670]	Thr Arg Met Glu Pro Phe His Phe Lys Asn Ser Val Ile Lys Val Pro		
[0671]	515	520	525
[0672]	Met Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro Val Ala His Phe Ile Asp Gln Thr		
[0673]	530	535	540
[0674]	Leu Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu Gln Leu Ser His Asn Leu Ser Leu		
[0675]	545	550	555 560
[0676]	Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys His Arg Leu Glu Asp Met Glu		
[0677]	565	570	575
[0678]	Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys Leu Glu		
[0679]	580	585	590
[0680]	Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys Val		
[0681]	595	600	605
[0682]	Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe Phe		
[0683]	610	615	620
[0684]	Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp		
[0685]	625	630	635 640
[0686]	Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu		
[0687]	645	650	655
[0688]	Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr		
[0689]	660	665	670
[0690]	Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp		
[0691]	675	680	685
[0692]	Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg		
[0693]	690	695	700
[0694]	Ala		
[0695]	705		
[0696]	<210> 14		
[0697]	<211> 608		
[0698]	<212> PRT		
[0699]	<213> 人造序列		
[0700]	<220>		
[0701]	<223> 人造序列描述:合成多肽		

[0702]	<400> 14															
[0703]	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Glu	Ala	Ala	Gly
[0704]	1				5					10					15	
[0705]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met
[0706]					20					25					30	
[0707]	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His
[0708]					35					40					45	
[0709]	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val
[0710]					50					55					60	
[0711]	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr
[0712]	65					70						75				80
[0713]	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly
[0714]					85					90					95	
[0715]	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile
[0716]					100					105					110	
[0717]	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val
[0718]					115					120					125	
[0719]	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser
[0720]					130					135					140	
[0721]	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu
[0722]	145					150						155				160
[0723]	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro
[0724]					165					170					175	
[0725]	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val
[0726]					180					185					190	
[0727]	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met
[0728]					195					200					205	
[0729]	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser
[0730]					210					215					220	
[0731]	Pro	Gly	Lys	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp
[0732]	225					230						235				240
[0733]	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp
[0734]					245					250					255	
[0735]	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu
[0736]					260					265					270	
[0737]	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln
[0738]					275					280					285	
[0739]	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile
[0740]					290					295					300	

[0741]	Leu Ser Tyr Pro Lys Asp Phe Thr Cys Val His Gln Ala Leu Lys Gly		
[0742]	305	310	315 320
[0743]	Phe Thr Thr Lys Gly Val Thr Ser Val Ser Gln Ile Phe His Ser Pro		
[0744]		325 330	335
[0745]	Asp Leu Ala Ile Arg Asp Thr Phe Val Asn Ala Ser Arg Thr Leu Tyr		
[0746]		340 345	350
[0747]	Ser Ser Ser Pro Arg Val Leu Ser Asn Asn Ser Asp Ala Asn Leu Glu		
[0748]		355 360	365
[0749]	Leu Ile Asn Thr Trp Val Ala Lys Asn Thr Asn Asn Lys Ile Ser Arg		
[0750]		370 375	380
[0751]	Leu Leu Asp Ser Leu Pro Ser Asp Thr Arg Leu Val Leu Leu Asn Ala		
[0752]	385	390	395 400
[0753]	Ile Tyr Leu Ser Ala Lys Trp Lys Thr Thr Phe Asp Pro Lys Lys Thr		
[0754]		405 410	415
[0755]	Arg Met Glu Pro Phe His Phe Lys Asn Ser Val Ile Lys Val Pro Met		
[0756]		420 425	430
[0757]	Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro Val Ala His Phe Ile Asp Gln Thr Leu		
[0758]		435 440	445
[0759]	Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu Gln Leu Ser His Asn Leu Ser Leu Val		
[0760]		450 455	460
[0761]	Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys His Arg Leu Glu Asp Met Glu Gln		
[0762]	465	470	475 480
[0763]	Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys Leu Glu Met		
[0764]		485 490	495
[0765]	Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys Val Thr		
[0766]		500 505	510
[0767]	Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe Phe Asp		
[0768]		515 520	525
[0769]	Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp Leu		
[0770]		530 535	540
[0771]	Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu Thr		
[0772]	545	550	555 560
[0773]	Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr Leu		
[0774]		565 570	575
[0775]	Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp Gln		
[0776]		580 585	590
[0777]	Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg Ala		
[0778]		595 600	605
[0779]	<210> 15		

[0780]	<211>	707
[0781]	<212>	PRT
[0782]	<213>	人造序列
[0783]	<220>	
[0784]	<223>	人造序列描述:合成多肽
[0785]	<400>	15
[0786]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe	
[0787]	1 5 10 15	
[0788]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr	
[0789]	20 25 30	
[0790]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val	
[0791]	35 40 45	
[0792]	Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val	
[0793]	50 55 60	
[0794]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser	
[0795]	65 70 75 80	
[0796]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu	
[0797]	85 90 95	
[0798]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser	
[0799]	100 105 110	
[0800]	Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro	
[0801]	115 120 125	
[0802]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln	
[0803]	130 135 140	
[0804]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala	
[0805]	145 150 155 160	
[0806]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr	
[0807]	165 170 175	
[0808]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu	
[0809]	180 185 190	
[0810]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser	
[0811]	195 200 205	
[0812]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser	
[0813]	210 215 220	
[0814]	Leu Ser Leu Gly Lys Asn Pro Asn Ala Thr Ser Ser Ser Ser Gln Asp	
[0815]	225 230 235 240	
[0816]	Pro Glu Ser Leu Gln Asp Arg Gly Glu Gly Lys Val Ala Thr Thr Val	
[0817]	245 250 255	
[0818]	Ile Ser Lys Met Leu Phe Val Glu Pro Ile Leu Glu Val Ser Ser Leu	

[0819]	260							265							270							
[0820]	Pro	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn						
[0821]	275							280							285							
[0822]	Thr	Thr	Asp	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln						
[0823]	290							295							300							
[0824]	Pro	Thr	Ile	Gln	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gln	Leu	Pro	Thr	Asp	Ser						
[0825]	305	310							315							320						
[0826]	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu						
[0827]	325							330							335							
[0828]	Cys	Ser	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala						
[0829]	340							345							350							
[0830]	Leu	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys						
[0831]	355							360							365							
[0832]	Lys	Val	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu						
[0833]	370							375							380							
[0834]	Leu	Thr	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu						
[0835]	385	390							395							400						
[0836]	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala						
[0837]	405							410							415							
[0838]	Leu	Lys	Gly	Phe	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe						
[0839]	420							425							430							
[0840]	His	Ser	Pro	Asp	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg						
[0841]	435							440							445							
[0842]	Thr	Leu	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala						
[0843]	450							455							460							
[0844]	Asn	Leu	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys						
[0845]	465	470							475							480						
[0846]	Ile	Ser	Arg	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu						
[0847]	485							490							495							
[0848]	Leu	Asn	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro						
[0849]	500							505							510							
[0850]	Lys	Lys	Thr	Arg	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys						
[0851]	515							520							525							
[0852]	Val	Pro	Met	Met	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp						
[0853]	530							535							540							
[0854]	Gln	Thr	Leu	Lys	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu						
[0855]	545	550							555							560						
[0856]	Ser	Leu	Val	Ile	Leu	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp						
[0857]	565							570							575							

[0858]	Met Glu Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys
[0859]	580 585 590
[0860]	Leu Glu Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile
[0861]	595 600 605
[0862]	Lys Val Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu
[0863]	610 615 620
[0864]	Phe Phe Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp
[0865]	625 630 635 640
[0866]	Pro Asp Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu
[0867]	645 650 655
[0868]	Thr Glu Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala
[0869]	660 665 670
[0870]	Arg Thr Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu
[0871]	675 680 685
[0872]	Trp Asp Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp
[0873]	690 695 700
[0874]	Pro Arg Ala
[0875]	705
[0876]	<210> 16
[0877]	<211> 610
[0878]	<212> PRT
[0879]	<213> 人造序列
[0880]	<220>
[0881]	<223> 人造序列描述:合成多肽
[0882]	<400> 16
[0883]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe
[0884]	1 5 10 15
[0885]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[0886]	20 25 30
[0887]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[0888]	35 40 45
[0889]	Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[0890]	50 55 60
[0891]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
[0892]	65 70 75 80
[0893]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[0894]	85 90 95
[0895]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
[0896]	100 105 110

[0897]	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro
[0898]			115					120					125			
[0899]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln
[0900]		130						135				140				
[0901]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala
[0902]	145					150					155					160
[0903]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr
[0904]					165					170					175	
[0905]	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu
[0906]			180						185					190		
[0907]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser
[0908]		195						200					205			
[0909]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser
[0910]		210						215				220				
[0911]	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys
[0912]	225					230					235					240
[0913]	Ser	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu
[0914]					245					250					255	
[0915]	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys
[0916]			260						265					270		
[0917]	Val	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu
[0918]		275						280					285			
[0919]	Thr	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu
[0920]		290					295					300				
[0921]	Ser	Ile	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu
[0922]	305					310					315					320
[0923]	Lys	Gly	Phe	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His
[0924]					325					330					335	
[0925]	Ser	Pro	Asp	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr
[0926]			340						345					350		
[0927]	Leu	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn
[0928]		355						360					365			
[0929]	Leu	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile
[0930]		370					375					380				
[0931]	Ser	Arg	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu
[0932]	385					390					395					400
[0933]	Asn	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys
[0934]					405					410				415		
[0935]	Lys	Thr	Arg	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val

[0936]	420	425	430
[0937]	Pro Met Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro Val Ala His Phe Ile Asp Gln		
[0938]	435	440	445
[0939]	Thr Leu Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu Gln Leu Ser His Asn Leu Ser		
[0940]	450	455	460
[0941]	Leu Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys His Arg Leu Glu Asp Met		
[0942]	465	470	475
[0943]	Glu Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys Leu		
[0944]	485	490	495
[0945]	Glu Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys		
[0946]	500	505	510
[0947]	Val Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe		
[0948]	515	520	525
[0949]	Phe Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro		
[0950]	530	535	540
[0951]	Asp Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr		
[0952]	545	550	555
[0953]	Glu Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg		
[0954]	565	570	575
[0955]	Thr Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp		
[0956]	580	585	590
[0957]	Asp Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro		
[0958]	595	600	605
[0959]	Arg Ala		
[0960]	610		
[0961]	<210> 17		
[0962]	<211> 609		
[0963]	<212> PRT		
[0964]	<213> 智人		
[0965]	<400> 17		
[0966]	Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala		
[0967]	1	5	10
[0968]	Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala		
[0969]	20	25	30
[0970]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu		
[0971]	35	40	45
[0972]	Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val		
[0973]	50	55	60
[0974]	Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp		

[0975]	65					70						75				80
[0976]	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp
[0977]						85						90				95
[0978]	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala
[0979]						100						105				110
[0980]	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln
[0981]						115						120				125
[0982]	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val
[0983]						130						135				140
[0984]	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys
[0985]	145											150				160
[0986]	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro
[0987]						165						170				175
[0988]	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys
[0989]						180						185				190
[0990]	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu
[0991]						195						200				205
[0992]	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys
[0993]						210						215				220
[0994]	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val
[0995]	225											230				240
[0996]	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser
[0997]						245						250				255
[0998]	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly
[0999]						260						265				270
[1000]	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile
[1001]						275						280				285
[1002]	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu
[1003]						290						295				300
[1004]	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp
[1005]	305											310				320
[1006]	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser
[1007]						325						330				335
[1008]	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
[1009]						340						345				350
[1010]	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val
[1011]						355						360				365
[1012]	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Lys	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys
[1013]						370						375				380

[1014]	Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu			
[1015]	385	390	395	400
[1016]	Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys			
[1017]		405	410	415
[1018]	Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu			
[1019]		420	425	430
[1020]	Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val			
[1021]		435	440	445
[1022]	Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His			
[1023]		450	455	460
[1024]	Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val			
[1025]	465	470	475	480
[1026]	Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg			
[1027]		485	490	495
[1028]	Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe			
[1029]		500	505	510
[1030]	Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala			
[1031]		515	520	525
[1032]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu			
[1033]		530	535	540
[1034]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys			
[1035]	545	550	555	560
[1036]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala			
[1037]		565	570	575
[1038]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe			
[1039]		580	585	590
[1040]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Arg Ala Ala Leu Gly			
[1041]		595	600	605
[1042]	Leu			
[1043]	<210> 18			
[1044]	<211> 1087			
[1045]	<212> PRT			
[1046]	<213> 人造序列			
[1047]	<220>			
[1048]	<223> 人造序列描述:合成多肽			
[1049]	<400> 18			
[1050]	Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala			
[1051]	1	5	10	15
[1052]	Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala			

[1053]				20					25					30			
[1054]	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu	
[1055]				35					40					45			
[1056]	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln	Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val	
[1057]				50					55					60			
[1058]	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp	
[1059]	65						70				75					80	
[1060]	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp	
[1061]					85					90					95		
[1062]	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala	
[1063]					100					105					110		
[1064]	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln	
[1065]					115					120				125			
[1066]	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val	
[1067]					130					135				140			
[1068]	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys	
[1069]	145						150				155					160	
[1070]	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro	
[1071]					165					170					175		
[1072]	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys	
[1073]					180					185					190		
[1074]	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu	
[1075]					195					200				205			
[1076]	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys	
[1077]					210					215				220			
[1078]	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val	
[1079]	225						230				235					240	
[1080]	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser	
[1081]					245					250					255		
[1082]	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly	
[1083]					260					265					270		
[1084]	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile	
[1085]					275					280				285			
[1086]	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu	
[1087]					290					295				300			
[1088]	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp	
[1089]	305						310				315					320	
[1090]	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser	
[1091]					325					330					335		

[1092]	Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly		
[1093]		340	345 350
[1094]	Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val		
[1095]		355	360 365
[1096]	Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Lys Thr Thr Leu Glu Lys Cys		
[1097]		370	375 380
[1098]	Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu		
[1099]		385	390 395 400
[1100]	Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys		
[1101]		405	410 415
[1102]	Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu		
[1103]		420	425 430
[1104]	Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val		
[1105]		435	440 445
[1106]	Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His		
[1107]		450	455 460
[1108]	Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val		
[1109]		465	470 475 480
[1110]	Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg		
[1111]		485	490 495
[1112]	Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe		
[1113]		500	505 510
[1114]	Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala		
[1115]		515	520 525
[1116]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu		
[1117]		530	535 540
[1118]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys		
[1119]		545	550 555 560
[1120]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala		
[1121]		565	570 575
[1122]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe		
[1123]		580	585 590
[1124]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Arg Ala Ala Leu Gly		
[1125]		595	600 605
[1126]	Leu Asn Pro Asn Ala Thr Ser Ser Ser Ser Gln Asp Pro Glu Ser Leu		
[1127]		610	615 620
[1128]	Gln Asp Arg Gly Glu Gly Lys Val Ala Thr Thr Val Ile Ser Lys Met		
[1129]		625	630 635 640
[1130]	Leu Phe Val Glu Pro Ile Leu Glu Val Ser Ser Leu Pro Thr Thr Asn		

[1131]					645				650				655															
[1132]	Ser	Thr	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn	Thr	Thr	Asp	Glu												
[1133]					660				665				670															
[1134]	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Ile	Gln												
[1135]					675				680				685															
[1136]	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gln	Leu	Pro	Thr	Asp	Ser	Pro	Thr	Gln	Pro												
[1137]					690				695				700															
[1138]	Thr	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp	Leu												
[1139]	705								710								715				720							
[1140]	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Phe												
[1141]					725								730								735							
[1142]	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu	Thr												
[1143]					740								745								750							
[1144]	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Val												
[1145]					755								760								765							
[1146]	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu												
[1147]					770								775								780							
[1148]	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Phe												
[1149]	785								790								795								800			
[1150]	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser	Pro	Asp												
[1151]					805								810								815							
[1152]	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu	Tyr	Ser												
[1153]					820								825								830							
[1154]	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu	Glu	Leu												
[1155]					835								840								845							
[1156]	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser	Arg	Leu												
[1157]	850								855								860											
[1158]	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile												
[1159]	865								870								875								880			
[1160]	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys	Thr	Arg												
[1161]					885								890								895							
[1162]	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro	Met	Met												
[1163]					900								905								910							
[1164]	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr	Leu	Lys												
[1165]					915								920								925							
[1166]	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu	Val	Ile												
[1167]	930								935								940											
[1168]	Leu	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu	Gln	Ala												
[1169]	945								950								955								960			

[1170]	Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys Leu Glu Met Ser		
[1171]		965	970
[1172]	Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys Val Thr Thr		
[1173]		980	985
[1174]	Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe Phe Asp Phe		
[1175]		995	1000
[1176]	Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp Leu		
[1177]		1010	1015
[1178]	Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu		
[1179]		1025	1030
[1180]	Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg		
[1181]		1040	1045
[1182]	Thr Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu		
[1183]		1055	1060
[1184]	Trp Asp Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr		
[1185]		1070	1075
[1186]	Asp Pro Arg Ala		
[1187]		1085	
[1188]	<210> 19		
[1189]	<211> 990		
[1190]	<212> PRT		
[1191]	<213> 人造序列		
[1192]	<220>		
[1193]	<223> 人造序列描述:合成多肽		
[1194]	<400> 19		
[1195]	Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala		
[1196]	1	5	10
[1197]	Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala		
[1198]		20	25
[1199]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu		
[1200]		35	40
[1201]	Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val		
[1202]		50	55
[1203]	Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp		
[1204]	65	70	75
[1205]	Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp		
[1206]		85	90
[1207]	Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala		
[1208]		100	105

[1209]	Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln		
[1210]	115	120	125
[1211]	His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val		
[1212]	130	135	140
[1213]	Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys		
[1214]	145	150	155
[1215]	Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro		
[1216]	165	170	175
[1217]	Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys		
[1218]	180	185	190
[1219]	Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu		
[1220]	195	200	205
[1221]	Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys		
[1222]	210	215	220
[1223]	Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val		
[1224]	225	230	235
[1225]	Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser		
[1226]	245	250	255
[1227]	Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly		
[1228]	260	265	270
[1229]	Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile		
[1230]	275	280	285
[1231]	Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu		
[1232]	290	295	300
[1233]	Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp		
[1234]	305	310	315
[1235]	Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser		
[1236]	325	330	335
[1237]	Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly		
[1238]	340	345	350
[1239]	Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val		
[1240]	355	360	365
[1241]	Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Lys Thr Thr Leu Glu Lys Cys		
[1242]	370	375	380
[1243]	Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu		
[1244]	385	390	395
[1245]	Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys		
[1246]	405	410	415
[1247]	Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu		

[1248]	420						425						430							
[1249]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val				
[1250]	435						440						445							
[1251]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His				
[1252]	450						455						460							
[1253]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val				
[1254]	465						470						475						480	
[1255]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg				
[1256]	485						490						495							
[1257]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe				
[1258]	500						505						510							
[1259]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala				
[1260]	515						520						525							
[1261]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu				
[1262]	530						535						540							
[1263]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys				
[1264]	545						550						555						560	
[1265]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala				
[1266]	565						570						575							
[1267]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe				
[1268]	580						585						590							
[1269]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Gly				
[1270]	595						600						605							
[1271]	Leu	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp	Leu	Glu				
[1272]	610						615						620							
[1273]	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Phe	Ser				
[1274]	625						630						635						640	
[1275]	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu	Thr	Asn				
[1276]	645						650						655							
[1277]	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Val	Leu				
[1278]	660						665						670							
[1279]	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser				
[1280]	675						680						685							
[1281]	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Phe	Thr				
[1282]	690						695						700							
[1283]	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser	Pro	Asp	Leu				
[1284]	705						710						715						720	
[1285]	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu	Tyr	Ser	Ser				
[1286]	725						730						735							

[1287]	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu	Glu	Leu	Ile
[1288]				740					745					750		
[1289]	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser	Arg	Leu	Leu
[1290]				755					760					765		
[1291]	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile	Tyr
[1292]				770					775					780		
[1293]	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys	Thr	Arg	Met
[1294]				785					790					795		800
[1295]	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro	Met	Met	Asn
[1296]					805					810					815	
[1297]	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr	Leu	Lys	Ala
[1298]				820						825					830	
[1299]	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Leu
[1300]				835						840					845	
[1301]	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu	Gln	Ala	Leu
[1302]				850						855				860		
[1303]	Ser	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Met	Ser	Lys
[1304]				865						870				875		880
[1305]	Phe	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val	Thr	Thr	Ser
[1306]					885					890					895	
[1307]	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe	Phe	Asp	Phe	Ser
[1308]				900						905					910	
[1309]	Tyr	Asp	Leu	Asn	Leu	Cys	Gly	Leu	Thr	Glu	Asp	Pro	Asp	Leu	Gln	Val
[1310]				915						920					925	
[1311]	Ser	Ala	Met	Gln	His	Gln	Thr	Val	Leu	Glu	Leu	Thr	Glu	Thr	Gly	Val
[1312]				930						935				940		
[1313]	Glu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ser	Ala	Ile	Ser	Val	Ala	Arg	Thr	Leu	Leu	Val
[1314]				945						950				955		960
[1315]	Phe	Glu	Val	Gln	Gln	Pro	Phe	Leu	Phe	Val	Leu	Trp	Asp	Gln	Gln	His
[1316]					965					970					975	
[1317]	Lys	Phe	Pro	Val	Phe	Met	Gly	Arg	Val	Tyr	Asp	Pro	Arg	Ala		
[1318]				980						985					990	
[1319]	<210> 20															
[1320]	<211> 225															
[1321]	<212> PRT															
[1322]	<213> 智人															
[1323]	<400> 20															
[1324]	Met	Glu	Thr	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Pro
[1325]	1				5					10					15	

[1326]	Asp Thr Thr Gly Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
[1327]	20 25 30
[1328]	Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu
[1329]	35 40 45
[1330]	Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val
[1331]	50 55 60
[1332]	Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His
[1333]	65 70 75 80
[1334]	Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val
[1335]	85 90 95
[1336]	Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg
[1337]	100 105 110
[1338]	Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe
[1339]	115 120 125
[1340]	Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala
[1341]	130 135 140
[1342]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu
[1343]	145 150 155 160
[1344]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys
[1345]	165 170 175
[1346]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala
[1347]	180 185 190
[1348]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
[1349]	195 200 205
[1350]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Arg Ala Ala Leu Gly
[1351]	210 215 220
[1352]	Leu
[1353]	225
[1354]	<210> 21
[1355]	<211> 703
[1356]	<212> PRT
[1357]	<213> 人造序列
[1358]	<220>
[1359]	<223> 人造序列描述:合成多肽
[1360]	<400> 21
[1361]	Met Glu Thr Pro Ala Gln Leu Leu Phe Leu Leu Leu Leu Trp Leu Pro
[1362]	1 5 10 15
[1363]	Asp Thr Thr Gly Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys
[1364]	20 25 30

[1365]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[1366]			35					40					45			
[1367]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[1368]		50					55					60				
[1369]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[1370]	65					70				75					80	
[1371]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[1372]					85					90					95	
[1373]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[1374]				100					105					110		
[1375]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[1376]			115					120					125			
[1377]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[1378]		130					135					140				
[1379]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[1380]	145					150					155				160	
[1381]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[1382]				165						170					175	
[1383]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala
[1384]			180							185					190	
[1385]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe
[1386]			195					200					205			
[1387]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Gly
[1388]		210					215					220				
[1389]	Leu	Asn	Pro	Asn	Ala	Thr	Ser	Ser	Ser	Ser	Gln	Asp	Pro	Glu	Ser	Leu
[1390]	225					230					235				240	
[1391]	Gln	Asp	Arg	Gly	Glu	Gly	Lys	Val	Ala	Thr	Thr	Val	Ile	Ser	Lys	Met
[1392]				245						250					255	
[1393]	Leu	Phe	Val	Glu	Pro	Ile	Leu	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Pro	Thr	Thr	Asn
[1394]			260						265					270		
[1395]	Ser	Thr	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn	Thr	Thr	Asp	Glu
[1396]			275						280					285		
[1397]	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Ile	Gln
[1398]		290						295				300				
[1399]	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gln	Leu	Pro	Thr	Asp	Ser	Pro	Thr	Gln	Pro
[1400]	305					310					315				320	
[1401]	Thr	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp	Leu
[1402]				325						330					335	
[1403]	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Phe

[1404]	340							345				350					
[1405]	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu	Thr	
[1406]	355							360				365					
[1407]	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Val	
[1408]	370							375				380					
[1409]	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	
[1410]	385		390							395				400			
[1411]	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Phe	
[1412]	405							410				415					
[1413]	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser	Pro	Asp	
[1414]	420							425				430					
[1415]	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu	Tyr	Ser	
[1416]	435							440				445					
[1417]	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu	Glu	Leu	
[1418]	450							455				460					
[1419]	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser	Arg	Leu	
[1420]	465		470							475				480			
[1421]	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile	
[1422]	485							490				495					
[1423]	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys	Thr	Arg	
[1424]	500							505				510					
[1425]	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro	Met	Met	
[1426]	515							520				525					
[1427]	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr	Leu	Lys	
[1428]	530							535				540					
[1429]	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	
[1430]	545		550							555				560			
[1431]	Leu	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu	Gln	Ala	
[1432]	565							570				575					
[1433]	Leu	Ser	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Met	Ser	
[1434]	580							585				590					
[1435]	Lys	Phe	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val	Thr	Thr	
[1436]	595							600				605					
[1437]	Ser	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe	Phe	Asp	Phe	
[1438]	610							615				620					
[1439]	Ser	Tyr	Asp	Leu	Asn	Leu	Cys	Gly	Leu	Thr	Glu	Asp	Pro	Asp	Leu	Gln	
[1440]	625		630							635				640			
[1441]	Val	Ser	Ala	Met	Gln	His	Gln	Thr	Val	Leu	Glu	Leu	Thr	Glu	Thr	Gly	
[1442]	645							650				655					

[1443]	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ser	Ala	Ile	Ser	Val	Ala	Arg	Thr	Leu	Leu
[1444]						660				665					670	
[1445]	Val	Phe	Glu	Val	Gln	Gln	Pro	Phe	Leu	Phe	Val	Leu	Trp	Asp	Gln	Gln
[1446]						675				680					685	
[1447]	His	Lys	Phe	Pro	Val	Phe	Met	Gly	Arg	Val	Tyr	Asp	Pro	Arg	Ala	
[1448]						690				695					700	
[1449]	<210> 22															
[1450]	<211> 606															
[1451]	<212> PRT															
[1452]	<213> 人造序列															
[1453]	<220>															
[1454]	<223> 人造序列描述:合成多肽															
[1455]	<400> 22															
[1456]	Met	Glu	Thr	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Pro
[1457]	1				5					10					15	
[1458]	Asp	Thr	Thr	Gly	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[1459]					20					25					30	
[1460]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[1461]					35					40					45	
[1462]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[1463]					50					55					60	
[1464]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[1465]	65					70					75					80
[1466]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[1467]					85					90					95	
[1468]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[1469]					100					105					110	
[1470]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[1471]					115					120					125	
[1472]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[1473]					130					135					140	
[1474]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[1475]	145					150					155					160
[1476]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[1477]					165					170					175	
[1478]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala
[1479]					180					185					190	
[1480]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe
[1481]					195					200					205	

[1482]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Gly
[1483]	210						215					220				
[1484]	Leu	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp	Leu	Glu
[1485]	225					230					235				240	
[1486]	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Phe	Ser
[1487]					245					250					255	
[1488]	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu	Thr	Asn
[1489]				260					265					270		
[1490]	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Val	Leu
[1491]		275						280						285		
[1492]	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser
[1493]		290					295					300				
[1494]	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Phe	Thr
[1495]	305					310					315				320	
[1496]	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser	Pro	Asp	Leu
[1497]					325					330					335	
[1498]	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu	Tyr	Ser	Ser
[1499]				340					345					350		
[1500]	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu	Glu	Leu	Ile
[1501]		355						360					365			
[1502]	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser	Arg	Leu	Leu
[1503]		370					375					380				
[1504]	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile	Tyr
[1505]	385					390					395				400	
[1506]	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys	Thr	Arg	Met
[1507]				405					410					415		
[1508]	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro	Met	Met	Asn
[1509]				420					425					430		
[1510]	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr	Leu	Lys	Ala
[1511]		435						440					445			
[1512]	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Leu
[1513]		450					455					460				
[1514]	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu	Gln	Ala	Leu
[1515]	465					470					475				480	
[1516]	Ser	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Met	Ser	Lys
[1517]					485					490					495	
[1518]	Phe	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val	Thr	Thr	Ser
[1519]				500					505					510		
[1520]	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe	Phe	Asp	Phe	Ser

[1521]	515	520	525
[1522]	Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp Leu Gln Val		
[1523]	530	535	540
[1524]	Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu Thr Gly Val		
[1525]	545	550	555
[1526]	Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr Leu Leu Val		
[1527]	565	570	575
[1528]	Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp Gln Gln His		
[1529]	580	585	590
[1530]	Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg Ala		
[1531]	595	600	605
[1532]	<210> 23		
[1533]	<211> 1090		
[1534]	<212> PRT		
[1535]	<213> 人造序列		
[1536]	<220>		
[1537]	<223> 人造序列描述:合成多肽		
[1538]	<400> 23		
[1539]	Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala		
[1540]	1	5	10
[1541]	Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala		
[1542]	20	25	30
[1543]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu		
[1544]	35	40	45
[1545]	Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val		
[1546]	50	55	60
[1547]	Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp		
[1548]	65	70	75
[1549]	Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp		
[1550]	85	90	95
[1551]	Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala		
[1552]	100	105	110
[1553]	Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln		
[1554]	115	120	125
[1555]	His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val		
[1556]	130	135	140
[1557]	Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys		
[1558]	145	150	155
[1559]	Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro		

[1560]	165							170							175				
[1561]	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys			
[1562]	180							185							190				
[1563]	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu			
[1564]	195							200							205				
[1565]	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys			
[1566]	210							215							220				
[1567]	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val			
[1568]	225							230							235			240	
[1569]	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser			
[1570]	245							250							255				
[1571]	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly			
[1572]	260							265							270				
[1573]	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile			
[1574]	275							280							285				
[1575]	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu			
[1576]	290							295							300				
[1577]	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp			
[1578]	305							310							315			320	
[1579]	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser			
[1580]	325							330							335				
[1581]	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly			
[1582]	340							345							350				
[1583]	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val			
[1584]	355							360							365				
[1585]	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Lys	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys			
[1586]	370							375							380				
[1587]	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu			
[1588]	385							390							395			400	
[1589]	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys			
[1590]	405							410							415				
[1591]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu			
[1592]	420							425							430				
[1593]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val			
[1594]	435							440							445				
[1595]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His			
[1596]	450							455							460				
[1597]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val			
[1598]	465							470							475			480	

[1599]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[1600]					485					490					495	
[1601]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[1602]				500					505					510		
[1603]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[1604]			515					520					525			
[1605]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[1606]		530					535					540				
[1607]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[1608]	545					550					555					560
[1609]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala
[1610]				565						570					575	
[1611]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe
[1612]			580						585					590		
[1613]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Gly
[1614]			595					600						605		
[1615]	Leu	Gly	Gly	Gly	Asn	Pro	Asn	Ala	Thr	Ser	Ser	Ser	Ser	Gln	Asp	Pro
[1616]		610					615						620			
[1617]	Glu	Ser	Leu	Gln	Asp	Arg	Gly	Glu	Gly	Lys	Val	Ala	Thr	Thr	Val	Ile
[1618]	625					630					635					640
[1619]	Ser	Lys	Met	Leu	Phe	Val	Glu	Pro	Ile	Leu	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Pro
[1620]				645						650					655	
[1621]	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn	Thr
[1622]			660							665					670	
[1623]	Thr	Asp	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro
[1624]			675							680					685	
[1625]	Thr	Ile	Gln	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gln	Leu	Pro	Thr	Asp	Ser	Pro
[1626]		690					695						700			
[1627]	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys
[1628]	705					710					715					720
[1629]	Ser	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu
[1630]				725						730					735	
[1631]	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys
[1632]			740							745				750		
[1633]	Val	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu
[1634]			755							760				765		
[1635]	Thr	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu
[1636]		770								775				780		
[1637]	Ser	Ile	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu

[1638]	785	790	795	800
[1639]	Lys Gly Phe Thr Thr	Lys Gly Val Thr Ser Val Ser Gln Ile Phe His		
[1640]		805	810	815
[1641]	Ser Pro Asp Leu Ala Ile Arg Asp Thr Phe Val Asn Ala Ser Arg Thr			
[1642]		820	825	830
[1643]	Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Arg Val Leu Ser Asn Asn Ser Asp Ala Asn			
[1644]		835	840	845
[1645]	Leu Glu Leu Ile Asn Thr Trp Val Ala Lys Asn Thr Asn Asn Lys Ile			
[1646]		850	855	860
[1647]	Ser Arg Leu Leu Asp Ser Leu Pro Ser Asp Thr Arg Leu Val Leu Leu			
[1648]	865	870	875	880
[1649]	Asn Ala Ile Tyr Leu Ser Ala Lys Trp Lys Thr Thr Phe Asp Pro Lys			
[1650]		885	890	895
[1651]	Lys Thr Arg Met Glu Pro Phe His Phe Lys Asn Ser Val Ile Lys Val			
[1652]		900	905	910
[1653]	Pro Met Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro Val Ala His Phe Ile Asp Gln			
[1654]		915	920	925
[1655]	Thr Leu Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu Gln Leu Ser His Asn Leu Ser			
[1656]		930	935	940
[1657]	Leu Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys His Arg Leu Glu Asp Met			
[1658]	945	950	955	960
[1659]	Glu Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys Leu			
[1660]		965	970	975
[1661]	Glu Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys			
[1662]		980	985	990
[1663]	Val Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe			
[1664]		995	1000	1005
[1665]	Phe Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp			
[1666]		1010	1015	1020
[1667]	Pro Asp Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu			
[1668]		1025	1030	1035
[1669]	Leu Thr Glu Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser			
[1670]		1040	1045	1050
[1671]	Val Ala Arg Thr Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu			
[1672]		1055	1060	1065
[1673]	Phe Val Leu Trp Asp Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly			
[1674]		1070	1075	1080
[1675]	Arg Val Tyr Asp Pro Arg Ala			
[1676]		1085	1090	

[1716]	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly
[1717]				260					265					270		
[1718]	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile
[1719]			275					280					285			
[1720]	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu
[1721]		290					295					300				
[1722]	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp
[1723]	305					310					315					320
[1724]	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser
[1725]				325					330						335	
[1726]	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
[1727]			340					345					350			
[1728]	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val
[1729]			355				360					365				
[1730]	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Lys	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys
[1731]		370					375					380				
[1732]	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu
[1733]	385					390				395						400
[1734]	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[1735]				405					410						415	
[1736]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[1737]			420					425					430			
[1738]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[1739]		435					440					445				
[1740]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[1741]	450					455				460						
[1742]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[1743]	465				470					475						480
[1744]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[1745]				485				490					495			
[1746]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[1747]			500					505					510			
[1748]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[1749]			515				520					525				
[1750]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[1751]		530					535					540				
[1752]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[1753]	545					550				555						560
[1754]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala

[1755]					565					570						575
[1756]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe
[1757]					580					585						590
[1758]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Gly
[1759]					595					600						605
[1760]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser
[1761]					610					615						620
[1762]	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val
[1763]					625					630						640
[1764]	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val
[1765]					645					650						655
[1766]	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr
[1767]					660					665						670
[1768]	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser
[1769]					675					680						685
[1770]	Ile	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys
[1771]					690					695						700
[1772]	Gly	Phe	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser
[1773]					705					710						720
[1774]	Pro	Asp	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu
[1775]					725					730						735
[1776]	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu
[1777]					740					745						750
[1778]	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser
[1779]					755					760						765
[1780]	Arg	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn
[1781]					770					775						780
[1782]	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys
[1783]					785					790						800
[1784]	Thr	Arg	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro
[1785]					805					810						815
[1786]	Met	Met	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr
[1787]					820					825						830
[1788]	Leu	Lys	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu
[1789]					835					840						845
[1790]	Val	Ile	Leu	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu
[1791]					850					855						860
[1792]	Gln	Ala	Leu	Ser	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu
[1793]					865					870						880

[1794]	Met	Ser	Lys	Phe	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val
[1795]					885					890					895	
[1796]	Thr	Thr	Ser	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe	Phe
[1797]				900					905					910		
[1798]	Asp	Phe	Ser	Tyr	Asp	Leu	Asn	Leu	Cys	Gly	Leu	Thr	Glu	Asp	Pro	Asp
[1799]			915					920					925			
[1800]	Leu	Gln	Val	Ser	Ala	Met	Gln	His	Gln	Thr	Val	Leu	Glu	Leu	Thr	Glu
[1801]		930					935					940				
[1802]	Thr	Gly	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ser	Ala	Ile	Ser	Val	Ala	Arg	Thr
[1803]	945				950					955					960	
[1804]	Leu	Leu	Val	Phe	Glu	Val	Gln	Gln	Pro	Phe	Leu	Phe	Val	Leu	Trp	Asp
[1805]				965					970					975		
[1806]	Gln	Gln	His	Lys	Phe	Pro	Val	Phe	Met	Gly	Arg	Val	Tyr	Asp	Pro	Arg
[1807]			980					985					990			
[1808]	Ala															
[1809]	<210>	25														
[1810]	<211>	706														
[1811]	<212>	PRT														
[1812]	<213>	人造序列														
[1813]	<220>															
[1814]	<223>	人造序列描述:合成多肽														
[1815]	<400>	25														
[1816]	Met	Glu	Thr	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Pro
[1817]	1			5					10					15		
[1818]	Asp	Thr	Thr	Gly	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[1819]			20					25					30			
[1820]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[1821]		35					40					45				
[1822]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[1823]		50					55				60					
[1824]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[1825]	65				70				75						80	
[1826]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[1827]			85					90					95			
[1828]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[1829]			100					105					110			
[1830]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[1831]			115					120					125			
[1832]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala

[1833]	130	135	140
[1834]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu		
[1835]	145	150	155
[1836]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys		
[1837]	165	170	175
[1838]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala		
[1839]	180	185	190
[1840]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe		
[1841]	195	200	205
[1842]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Arg Ala Ala Leu Gly		
[1843]	210	215	220
[1844]	Leu Gly Gly Gly Asn Pro Asn Ala Thr Ser Ser Ser Ser Gln Asp Pro		
[1845]	225	230	235
[1846]	Glu Ser Leu Gln Asp Arg Gly Glu Gly Lys Val Ala Thr Thr Val Ile		
[1847]	245	250	255
[1848]	Ser Lys Met Leu Phe Val Glu Pro Ile Leu Glu Val Ser Ser Leu Pro		
[1849]	260	265	270
[1850]	Thr Thr Asn Ser Thr Thr Asn Ser Ala Thr Lys Ile Thr Ala Asn Thr		
[1851]	275	280	285
[1852]	Thr Asp Glu Pro Thr Thr Gln Pro Thr Thr Glu Pro Thr Thr Gln Pro		
[1853]	290	295	300
[1854]	Thr Ile Gln Pro Thr Gln Pro Thr Thr Gln Leu Pro Thr Asp Ser Pro		
[1855]	305	310	315
[1856]	Thr Gln Pro Thr Thr Gly Ser Phe Cys Pro Gly Pro Val Thr Leu Cys		
[1857]	325	330	335
[1858]	Ser Asp Leu Glu Ser His Ser Thr Glu Ala Val Leu Gly Asp Ala Leu		
[1859]	340	345	350
[1860]	Val Asp Phe Ser Leu Lys Leu Tyr His Ala Phe Ser Ala Met Lys Lys		
[1861]	355	360	365
[1862]	Val Glu Thr Asn Met Ala Phe Ser Pro Phe Ser Ile Ala Ser Leu Leu		
[1863]	370	375	380
[1864]	Thr Gln Val Leu Leu Gly Ala Gly Glu Asn Thr Lys Thr Asn Leu Glu		
[1865]	385	390	395
[1866]	Ser Ile Leu Ser Tyr Pro Lys Asp Phe Thr Cys Val His Gln Ala Leu		
[1867]	405	410	415
[1868]	Lys Gly Phe Thr Thr Lys Gly Val Thr Ser Val Ser Gln Ile Phe His		
[1869]	420	425	430
[1870]	Ser Pro Asp Leu Ala Ile Arg Asp Thr Phe Val Asn Ala Ser Arg Thr		
[1871]	435	440	445

[1872]	Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Arg Val Leu Ser Asn Asn Ser Asp Ala Asn
[1873]	450 455 460
[1874]	Leu Glu Leu Ile Asn Thr Trp Val Ala Lys Asn Thr Asn Asn Lys Ile
[1875]	465 470 475 480
[1876]	Ser Arg Leu Leu Asp Ser Leu Pro Ser Asp Thr Arg Leu Val Leu Leu
[1877]	485 490 495
[1878]	Asn Ala Ile Tyr Leu Ser Ala Lys Trp Lys Thr Thr Phe Asp Pro Lys
[1879]	500 505 510
[1880]	Lys Thr Arg Met Glu Pro Phe His Phe Lys Asn Ser Val Ile Lys Val
[1881]	515 520 525
[1882]	Pro Met Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro Val Ala His Phe Ile Asp Gln
[1883]	530 535 540
[1884]	Thr Leu Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu Gln Leu Ser His Asn Leu Ser
[1885]	545 550 555 560
[1886]	Leu Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys His Arg Leu Glu Asp Met
[1887]	565 570 575
[1888]	Glu Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys Leu
[1889]	580 585 590
[1890]	Glu Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys
[1891]	595 600 605
[1892]	Val Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe
[1893]	610 615 620
[1894]	Phe Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro
[1895]	625 630 635 640
[1896]	Asp Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr
[1897]	645 650 655
[1898]	Glu Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg
[1899]	660 665 670
[1900]	Thr Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp
[1901]	675 680 685
[1902]	Asp Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro
[1903]	690 695 700
[1904]	Arg Ala
[1905]	705
[1906]	<210> 26
[1907]	<211> 609
[1908]	<212> PRT
[1909]	<213> 人造序列
[1910]	<220>

[1911]	<223> 人造序列描述:合成多肽															
[1912]	<400> 26															
[1913]	Met	Glu	Thr	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Pro
[1914]	1				5				10					15		
[1915]	Asp	Thr	Thr	Gly	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[1916]				20					25					30		
[1917]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[1918]				35					40					45		
[1919]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[1920]		50					55					60				
[1921]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[1922]	65					70					75					80
[1923]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[1924]					85					90					95	
[1925]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[1926]				100					105					110		
[1927]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[1928]			115					120					125			
[1929]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[1930]		130						135					140			
[1931]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[1932]	145					150					155					160
[1933]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[1934]				165					170						175	
[1935]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala
[1936]				180					185					190		
[1937]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe
[1938]			195					200					205			
[1939]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Gly
[1940]		210					215					220				
[1941]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser
[1942]	225					230					235					240
[1943]	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val
[1944]					245					250					255	
[1945]	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val
[1946]				260					265					270		
[1947]	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr
[1948]			275						280				285			
[1949]	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser

[1950]	290	295	300
[1951]	Ile Leu Ser Tyr Pro Lys Asp Phe Thr Cys Val His Gln Ala Leu Lys		
[1952]	305	310	315
[1953]	Gly Phe Thr Thr Lys Gly Val Thr Ser Val Ser Gln Ile Phe His Ser		
[1954]	325	330	335
[1955]	Pro Asp Leu Ala Ile Arg Asp Thr Phe Val Asn Ala Ser Arg Thr Leu		
[1956]	340	345	350
[1957]	Tyr Ser Ser Ser Pro Arg Val Leu Ser Asn Asn Ser Asp Ala Asn Leu		
[1958]	355	360	365
[1959]	Glu Leu Ile Asn Thr Trp Val Ala Lys Asn Thr Asn Asn Lys Ile Ser		
[1960]	370	375	380
[1961]	Arg Leu Leu Asp Ser Leu Pro Ser Asp Thr Arg Leu Val Leu Leu Asn		
[1962]	385	390	395
[1963]	Ala Ile Tyr Leu Ser Ala Lys Trp Lys Thr Thr Phe Asp Pro Lys Lys		
[1964]	405	410	415
[1965]	Thr Arg Met Glu Pro Phe His Phe Lys Asn Ser Val Ile Lys Val Pro		
[1966]	420	425	430
[1967]	Met Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro Val Ala His Phe Ile Asp Gln Thr		
[1968]	435	440	445
[1969]	Leu Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu Gln Leu Ser His Asn Leu Ser Leu		
[1970]	450	455	460
[1971]	Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys His Arg Leu Glu Asp Met Glu		
[1972]	465	470	475
[1973]	Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys Leu Glu		
[1974]	485	490	495
[1975]	Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys Val		
[1976]	500	505	510
[1977]	Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe Phe		
[1978]	515	520	525
[1979]	Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp		
[1980]	530	535	540
[1981]	Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu		
[1982]	545	550	555
[1983]	Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr		
[1984]	565	570	575
[1985]	Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp		
[1986]	580	585	590
[1987]	Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg		
[1988]	595	600	605

[1989]	Ala																		
[1990]	<210> 27																		
[1991]	<211> 10																		
[1992]	<212> PRT																		
[1993]	<213> 人造序列																		
[1994]	<220>																		
[1995]	<223> 人造序列描述:合成多肽																		
[1996]	<400> 27																		
[1997]	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser									
[1998]	1					5					10								
[1999]	<210> 28																		
[2000]	<211> 1097																		
[2001]	<212> PRT																		
[2002]	<213> 人造序列																		
[2003]	<220>																		
[2004]	<223> 人造序列描述:合成多肽																		
[2005]	<400> 28																		
[2006]	Met	Lys	Trp	Val	Thr	Phe	Ile	Ser	Leu	Leu	Phe	Leu	Phe	Ser	Ser	Ala			
[2007]	1					5					10					15			
[2008]	Tyr	Ser	Arg	Gly	Val	Phe	Arg	Arg	Asp	Ala	His	Lys	Ser	Glu	Val	Ala			
[2009]					20					25					30				
[2010]	His	Arg	Phe	Lys	Asp	Leu	Gly	Glu	Glu	Asn	Phe	Lys	Ala	Leu	Val	Leu			
[2011]					35					40					45				
[2012]	Ile	Ala	Phe	Ala	Gln	Tyr	Leu	Gln	Gln	Cys	Pro	Phe	Glu	Asp	His	Val			
[2013]					50					55					60				
[2014]	Lys	Leu	Val	Asn	Glu	Val	Thr	Glu	Phe	Ala	Lys	Thr	Cys	Val	Ala	Asp			
[2015]	65					70					75					80			
[2016]	Glu	Ser	Ala	Glu	Asn	Cys	Asp	Lys	Ser	Leu	His	Thr	Leu	Phe	Gly	Asp			
[2017]					85					90					95				
[2018]	Lys	Leu	Cys	Thr	Val	Ala	Thr	Leu	Arg	Glu	Thr	Tyr	Gly	Glu	Met	Ala			
[2019]					100					105					110				
[2020]	Asp	Cys	Cys	Ala	Lys	Gln	Glu	Pro	Glu	Arg	Asn	Glu	Cys	Phe	Leu	Gln			
[2021]					115					120					125				
[2022]	His	Lys	Asp	Asp	Asn	Pro	Asn	Leu	Pro	Arg	Leu	Val	Arg	Pro	Glu	Val			
[2023]					130					135					140				
[2024]	Asp	Val	Met	Cys	Thr	Ala	Phe	His	Asp	Asn	Glu	Glu	Thr	Phe	Leu	Lys			
[2025]	145					150					155					160			
[2026]	Lys	Tyr	Leu	Tyr	Glu	Ile	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Tyr	Phe	Tyr	Ala	Pro			
[2027]					165					170					175				

[2028]	Glu	Leu	Leu	Phe	Phe	Ala	Lys	Arg	Tyr	Lys	Ala	Ala	Phe	Thr	Glu	Cys
[2029]				180				185					190			
[2030]	Cys	Gln	Ala	Ala	Asp	Lys	Ala	Ala	Cys	Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Asp	Glu
[2031]			195					200					205			
[2032]	Leu	Arg	Asp	Glu	Gly	Lys	Ala	Ser	Ser	Ala	Lys	Gln	Arg	Leu	Lys	Cys
[2033]		210					215					220				
[2034]	Ala	Ser	Leu	Gln	Lys	Phe	Gly	Glu	Arg	Ala	Phe	Lys	Ala	Trp	Ala	Val
[2035]	225					230					235					240
[2036]	Ala	Arg	Leu	Ser	Gln	Arg	Phe	Pro	Lys	Ala	Glu	Phe	Ala	Glu	Val	Ser
[2037]				245						250					255	
[2038]	Lys	Leu	Val	Thr	Asp	Leu	Thr	Lys	Val	His	Thr	Glu	Cys	Cys	His	Gly
[2039]				260					265						270	
[2040]	Asp	Leu	Leu	Glu	Cys	Ala	Asp	Asp	Arg	Ala	Asp	Leu	Ala	Lys	Tyr	Ile
[2041]			275					280					285			
[2042]	Cys	Glu	Asn	Gln	Asp	Ser	Ile	Ser	Ser	Lys	Leu	Lys	Glu	Cys	Cys	Glu
[2043]		290					295					300				
[2044]	Lys	Pro	Leu	Leu	Glu	Lys	Ser	His	Cys	Ile	Ala	Glu	Val	Glu	Asn	Asp
[2045]	305					310					315					320
[2046]	Glu	Met	Pro	Ala	Asp	Leu	Pro	Ser	Leu	Ala	Ala	Asp	Phe	Val	Glu	Ser
[2047]				325					330						335	
[2048]	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Asn	Tyr	Ala	Glu	Ala	Lys	Asp	Val	Phe	Leu	Gly
[2049]			340						345					350		
[2050]	Met	Phe	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Ala	Arg	Arg	His	Pro	Asp	Tyr	Ser	Val	Val
[2051]			355					360					365			
[2052]	Leu	Leu	Leu	Arg	Leu	Ala	Lys	Thr	Tyr	Lys	Thr	Thr	Leu	Glu	Lys	Cys
[2053]		370					375					380				
[2054]	Cys	Ala	Ala	Ala	Asp	Pro	His	Glu	Cys	Tyr	Ala	Lys	Val	Phe	Asp	Glu
[2055]	385					390					395					400
[2056]	Phe	Lys	Pro	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[2057]				405					410					415		
[2058]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[2059]				420					425				430			
[2060]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[2061]			435						440				445			
[2062]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[2063]		450					455					460				
[2064]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[2065]	465					470					475					480
[2066]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg

[2067]					485					490						495
[2068]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[2069]					500					505						510
[2070]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[2071]					515					520						525
[2072]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[2073]					530					535						540
[2074]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[2075]					545					550						555
[2076]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala
[2077]					565					570						575
[2078]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe
[2079]					580					585						590
[2080]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Gly
[2081]					595					600						605
[2082]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asn	Pro	Asn	Ala	Thr
[2083]					610					615						620
[2084]	Ser	Ser	Ser	Ser	Gln	Asp	Pro	Glu	Ser	Leu	Gln	Asp	Arg	Gly	Glu	Gly
[2085]					625					630						635
[2086]	Lys	Val	Ala	Thr	Thr	Val	Ile	Ser	Lys	Met	Leu	Phe	Val	Glu	Pro	Ile
[2087]					645					650						655
[2088]	Leu	Glu	Val	Ser	Ser	Leu	Pro	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Thr	Asn	Ser	Ala
[2089]					660					665						670
[2090]	Thr	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn	Thr	Thr	Asp	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr
[2091]					675					680						685
[2092]	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Ile	Gln	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr
[2093]					690					695						700
[2094]	Gln	Leu	Pro	Thr	Asp	Ser	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys
[2095]					705					710						715
[2096]	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu
[2097]					725					730						735
[2098]	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His
[2099]					740					745						750
[2100]	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro
[2101]					755					760						765
[2102]	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu
[2103]					770					775						780
[2104]	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe
[2105]					785					790						795
																800

[2106]	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	Lys	Gly	Phe	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr
[2107]					805				810					815		
[2108]	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	Ser	Pro	Asp	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr
[2109]				820					825					830		
[2110]	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	Leu	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu
[2111]			835					840					845			
[2112]	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	Leu	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala
[2113]		850						855					860			
[2114]	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	Ser	Arg	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser
[2115]	865					870					875				880	
[2116]	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	Asn	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp
[2117]				885					890						895	
[2118]	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys	Lys	Thr	Arg	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe
[2119]				900					905					910		
[2120]	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val	Pro	Met	Met	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro
[2121]			915					920					925			
[2122]	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln	Thr	Leu	Lys	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu
[2123]		930					935						940			
[2124]	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser	Leu	Val	Ile	Leu	Val	Pro	Gln	Asn	Leu
[2125]	945					950					955				960	
[2126]	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met	Glu	Gln	Ala	Leu	Ser	Pro	Ser	Val	Phe
[2127]				965					970						975	
[2128]	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Met	Ser	Lys	Phe	Gln	Pro	Thr	Leu
[2129]				980					985					990		
[2130]	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val	Thr	Thr	Ser	Gln	Asp	Met	Leu	Ser
[2131]			995					1000						1005		
[2132]	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe	Phe	Asp	Phe	Ser	Tyr	Asp	Leu	Asn	
[2133]		1010					1015					1020				
[2134]	Leu	Cys	Gly	Leu	Thr	Glu	Asp	Pro	Asp	Leu	Gln	Val	Ser	Ala	Met	
[2135]		1025					1030					1035				
[2136]	Gln	His	Gln	Thr	Val	Leu	Glu	Leu	Thr	Glu	Thr	Gly	Val	Glu	Ala	
[2137]		1040					1045					1050				
[2138]	Ala	Ala	Ala	Ser	Ala	Ile	Ser	Val	Ala	Arg	Thr	Leu	Leu	Val	Phe	
[2139]		1055					1060					1065				
[2140]	Glu	Val	Gln	Gln	Pro	Phe	Leu	Phe	Val	Leu	Trp	Asp	Gln	Gln	His	
[2141]		1070					1075					1080				
[2142]	Lys	Phe	Pro	Val	Phe	Met	Gly	Arg	Val	Tyr	Asp	Pro	Arg	Ala		
[2143]		1085					1090					1095				
[2144]	<210>	29														

[2145]	<211>	1000
[2146]	<212>	PRT
[2147]	<213>	人造序列
[2148]	<220>	
[2149]	<223>	人造序列描述:合成多肽
[2150]	<400>	29
[2151]	Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala	
[2152]	1	5 10 15
[2153]	Tyr Ser Arg Gly Val Phe Arg Arg Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala	
[2154]	20	25 30
[2155]	His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu	
[2156]	35	40 45
[2157]	Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val	
[2158]	50	55 60
[2159]	Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp	
[2160]	65	70 75 80
[2161]	Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp	
[2162]	85	90 95
[2163]	Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala	
[2164]	100	105 110
[2165]	Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln	
[2166]	115	120 125
[2167]	His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val	
[2168]	130	135 140
[2169]	Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys	
[2170]	145	150 155 160
[2171]	Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro	
[2172]	165	170 175
[2173]	Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys	
[2174]	180	185 190
[2175]	Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu	
[2176]	195	200 205
[2177]	Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys	
[2178]	210	215 220
[2179]	Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val	
[2180]	225	230 235 240
[2181]	Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser	
[2182]	245	250 255
[2183]	Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys Val His Thr Glu Cys Cys His Gly	

[2184]	260	265	270
[2185]	Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile		
[2186]	275	280	285
[2187]	Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu		
[2188]	290	295	300
[2189]	Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp		
[2190]	305	310	315
[2191]	Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser		
[2192]	325	330	335
[2193]	Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly		
[2194]	340	345	350
[2195]	Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val		
[2196]	355	360	365
[2197]	Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr Tyr Lys Thr Thr Leu Glu Lys Cys		
[2198]	370	375	380
[2199]	Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu		
[2200]	385	390	395
[2201]	Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys		
[2202]	405	410	415
[2203]	Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu		
[2204]	420	425	430
[2205]	Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val		
[2206]	435	440	445
[2207]	Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His		
[2208]	450	455	460
[2209]	Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val		
[2210]	465	470	475
[2211]	Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg		
[2212]	485	490	495
[2213]	Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe		
[2214]	500	505	510
[2215]	Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala		
[2216]	515	520	525
[2217]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu		
[2218]	530	535	540
[2219]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys		
[2220]	545	550	555
[2221]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala		
[2222]	565	570	575

[2223]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe
[2224]	580 585 590
[2225]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Arg Ala Ala Leu Gly
[2226]	595 600 605
[2227]	Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Ser Phe Cys Pro
[2228]	610 615 620
[2229]	Gly Pro Val Thr Leu Cys Ser Asp Leu Glu Ser His Ser Thr Glu Ala
[2230]	625 630 635 640
[2231]	Val Leu Gly Asp Ala Leu Val Asp Phe Ser Leu Lys Leu Tyr His Ala
[2232]	645 650 655
[2233]	Phe Ser Ala Met Lys Lys Val Glu Thr Asn Met Ala Phe Ser Pro Phe
[2234]	660 665 670
[2235]	Ser Ile Ala Ser Leu Leu Thr Gln Val Leu Leu Gly Ala Gly Glu Asn
[2236]	675 680 685
[2237]	Thr Lys Thr Asn Leu Glu Ser Ile Leu Ser Tyr Pro Lys Asp Phe Thr
[2238]	690 695 700
[2239]	Cys Val His Gln Ala Leu Lys Gly Phe Thr Thr Lys Gly Val Thr Ser
[2240]	705 710 715 720
[2241]	Val Ser Gln Ile Phe His Ser Pro Asp Leu Ala Ile Arg Asp Thr Phe
[2242]	725 730 735
[2243]	Val Asn Ala Ser Arg Thr Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Arg Val Leu Ser
[2244]	740 745 750
[2245]	Asn Asn Ser Asp Ala Asn Leu Glu Leu Ile Asn Thr Trp Val Ala Lys
[2246]	755 760 765
[2247]	Asn Thr Asn Asn Lys Ile Ser Arg Leu Leu Asp Ser Leu Pro Ser Asp
[2248]	770 775 780
[2249]	Thr Arg Leu Val Leu Leu Asn Ala Ile Tyr Leu Ser Ala Lys Trp Lys
[2250]	785 790 795 800
[2251]	Thr Thr Phe Asp Pro Lys Lys Thr Arg Met Glu Pro Phe His Phe Lys
[2252]	805 810 815
[2253]	Asn Ser Val Ile Lys Val Pro Met Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro Val
[2254]	820 825 830
[2255]	Ala His Phe Ile Asp Gln Thr Leu Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu Gln
[2256]	835 840 845
[2257]	Leu Ser His Asn Leu Ser Leu Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys
[2258]	850 855 860
[2259]	His Arg Leu Glu Asp Met Glu Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys
[2260]	865 870 875 880
[2261]	Ala Ile Met Glu Lys Leu Glu Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu

[2262]					885					890					895	
[2263]	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys	Val	Thr	Thr	Ser	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Ile
[2264]					900					905					910	
[2265]	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe	Phe	Asp	Phe	Ser	Tyr	Asp	Leu	Asn	Leu	Cys
[2266]					915					920					925	
[2267]	Gly	Leu	Thr	Glu	Asp	Pro	Asp	Leu	Gln	Val	Ser	Ala	Met	Gln	His	Gln
[2268]					930					935					940	
[2269]	Thr	Val	Leu	Glu	Leu	Thr	Glu	Thr	Gly	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ser
[2270]	945						950					955				960
[2271]	Ala	Ile	Ser	Val	Ala	Arg	Thr	Leu	Leu	Val	Phe	Glu	Val	Gln	Gln	Pro
[2272]					965					970					975	
[2273]	Phe	Leu	Phe	Val	Leu	Trp	Asp	Gln	Gln	His	Lys	Phe	Pro	Val	Phe	Met
[2274]					980					985					990	
[2275]	Gly	Arg	Val	Tyr	Asp	Pro	Arg	Ala								
[2276]					995					1000						
[2277]	<210>	30														
[2278]	<211>	713														
[2279]	<212>	PRT														
[2280]	<213>	人造序列														
[2281]	<220>															
[2282]	<223>	人造序列描述:合成多肽														
[2283]	<400>	30														
[2284]	Met	Glu	Thr	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Pro
[2285]	1				5					10					15	
[2286]	Asp	Thr	Thr	Gly	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[2287]					20					25					30	
[2288]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[2289]					35					40					45	
[2290]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[2291]					50					55					60	
[2292]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[2293]	65					70					75				80	
[2294]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[2295]					85					90					95	
[2296]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[2297]					100					105					110	
[2298]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[2299]					115					120					125	
[2300]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala

[2301]	130	135	140
[2302]	Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu		
[2303]	145	150	155
[2304]	Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys		
[2305]	165	170	175
[2306]	Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala		
[2307]	180	185	190
[2308]	Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe		
[2309]	195	200	205
[2310]	Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val Ala Ala Ser Arg Ala Ala Leu Gly		
[2311]	210	215	220
[2312]	Leu Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asn Pro Asn Ala Thr		
[2313]	225	230	235
[2314]	Ser Ser Ser Ser Gln Asp Pro Glu Ser Leu Gln Asp Arg Gly Glu Gly		
[2315]	245	250	255
[2316]	Lys Val Ala Thr Thr Val Ile Ser Lys Met Leu Phe Val Glu Pro Ile		
[2317]	260	265	270
[2318]	Leu Glu Val Ser Ser Leu Pro Thr Thr Asn Ser Thr Thr Asn Ser Ala		
[2319]	275	280	285
[2320]	Thr Lys Ile Thr Ala Asn Thr Thr Asp Glu Pro Thr Thr Gln Pro Thr		
[2321]	290	295	300
[2322]	Thr Glu Pro Thr Thr Gln Pro Thr Ile Gln Pro Thr Gln Pro Thr Thr		
[2323]	305	310	315
[2324]	Gln Leu Pro Thr Asp Ser Pro Thr Gln Pro Thr Thr Gly Ser Phe Cys		
[2325]	325	330	335
[2326]	Pro Gly Pro Val Thr Leu Cys Ser Asp Leu Glu Ser His Ser Thr Glu		
[2327]	340	345	350
[2328]	Ala Val Leu Gly Asp Ala Leu Val Asp Phe Ser Leu Lys Leu Tyr His		
[2329]	355	360	365
[2330]	Ala Phe Ser Ala Met Lys Lys Val Glu Thr Asn Met Ala Phe Ser Pro		
[2331]	370	375	380
[2332]	Phe Ser Ile Ala Ser Leu Leu Thr Gln Val Leu Leu Gly Ala Gly Glu		
[2333]	385	390	395
[2334]	Asn Thr Lys Thr Asn Leu Glu Ser Ile Leu Ser Tyr Pro Lys Asp Phe		
[2335]	405	410	415
[2336]	Thr Cys Val His Gln Ala Leu Lys Gly Phe Thr Thr Lys Gly Val Thr		
[2337]	420	425	430
[2338]	Ser Val Ser Gln Ile Phe His Ser Pro Asp Leu Ala Ile Arg Asp Thr		
[2339]	435	440	445

[2340]	Phe Val Asn Ala Ser Arg Thr Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Arg Val Leu
[2341]	450 455 460
[2342]	Ser Asn Asn Ser Asp Ala Asn Leu Glu Leu Ile Asn Thr Trp Val Ala
[2343]	465 470 475 480
[2344]	Lys Asn Thr Asn Asn Lys Ile Ser Arg Leu Leu Asp Ser Leu Pro Ser
[2345]	485 490 495
[2346]	Asp Thr Arg Leu Val Leu Leu Asn Ala Ile Tyr Leu Ser Ala Lys Trp
[2347]	500 505 510
[2348]	Lys Thr Thr Phe Asp Pro Lys Lys Thr Arg Met Glu Pro Phe His Phe
[2349]	515 520 525
[2350]	Lys Asn Ser Val Ile Lys Val Pro Met Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro
[2351]	530 535 540
[2352]	Val Ala His Phe Ile Asp Gln Thr Leu Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu
[2353]	545 550 555 560
[2354]	Gln Leu Ser His Asn Leu Ser Leu Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu
[2355]	565 570 575
[2356]	Lys His Arg Leu Glu Asp Met Glu Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe
[2357]	580 585 590
[2358]	Lys Ala Ile Met Glu Lys Leu Glu Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu
[2359]	595 600 605
[2360]	Leu Thr Leu Pro Arg Ile Lys Val Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser
[2361]	610 615 620
[2362]	Ile Met Glu Lys Leu Glu Phe Phe Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu
[2363]	625 630 635 640
[2364]	Cys Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His
[2365]	645 650 655
[2366]	Gln Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala
[2367]	660 665 670
[2368]	Ser Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln
[2369]	675 680 685
[2370]	Pro Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe
[2371]	690 695 700
[2372]	Met Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg Ala
[2373]	705 710
[2374]	<210> 31
[2375]	<211> 616
[2376]	<212> PRT
[2377]	<213> 人造序列
[2378]	<220>

[2379]	<223> 人造序列描述:合成多肽															
[2380]	<400> 31															
[2381]	Met	Glu	Thr	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Phe	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Pro
[2382]	1				5				10					15		
[2383]	Asp	Thr	Thr	Gly	Val	Glu	Glu	Pro	Gln	Asn	Leu	Ile	Lys	Gln	Asn	Cys
[2384]				20					25					30		
[2385]	Glu	Leu	Phe	Glu	Gln	Leu	Gly	Glu	Tyr	Lys	Phe	Gln	Asn	Ala	Leu	Leu
[2386]				35					40					45		
[2387]	Val	Arg	Tyr	Thr	Lys	Lys	Val	Pro	Gln	Val	Ser	Thr	Pro	Thr	Leu	Val
[2388]		50					55					60				
[2389]	Glu	Val	Ser	Arg	Asn	Leu	Gly	Lys	Val	Gly	Ser	Lys	Cys	Cys	Lys	His
[2390]	65				70					75					80	
[2391]	Pro	Glu	Ala	Lys	Arg	Met	Pro	Cys	Ala	Glu	Asp	Tyr	Leu	Ser	Val	Val
[2392]					85					90					95	
[2393]	Leu	Asn	Gln	Leu	Cys	Val	Leu	His	Glu	Lys	Thr	Pro	Val	Ser	Asp	Arg
[2394]				100					105					110		
[2395]	Val	Thr	Lys	Cys	Cys	Thr	Glu	Ser	Leu	Val	Asn	Arg	Arg	Pro	Cys	Phe
[2396]			115					120					125			
[2397]	Ser	Ala	Leu	Glu	Val	Asp	Glu	Thr	Tyr	Val	Pro	Lys	Glu	Phe	Asn	Ala
[2398]		130					135					140				
[2399]	Glu	Thr	Phe	Thr	Phe	His	Ala	Asp	Ile	Cys	Thr	Leu	Ser	Glu	Lys	Glu
[2400]	145				150					155					160	
[2401]	Arg	Gln	Ile	Lys	Lys	Gln	Thr	Ala	Leu	Val	Glu	Leu	Val	Lys	His	Lys
[2402]				165					170					175		
[2403]	Pro	Lys	Ala	Thr	Lys	Glu	Gln	Leu	Lys	Ala	Val	Met	Asp	Asp	Phe	Ala
[2404]			180						185					190		
[2405]	Ala	Phe	Val	Glu	Lys	Cys	Cys	Lys	Ala	Asp	Asp	Lys	Glu	Thr	Cys	Phe
[2406]			195					200					205			
[2407]	Ala	Glu	Glu	Gly	Lys	Lys	Leu	Val	Ala	Ala	Ser	Arg	Ala	Ala	Leu	Gly
[2408]		210					215					220				
[2409]	Leu	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro
[2410]	225					230					235				240	
[2411]	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	Ser	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala
[2412]				245					250					255		
[2413]	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala
[2414]				260					265					270		
[2415]	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	Val	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe
[2416]			275					280					285			
[2417]	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	Thr	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn

[2418]	290	295	300
[2419]	Thr Lys Thr Asn Leu Glu Ser Ile Leu Ser Tyr Pro Lys Asp Phe Thr		
[2420]	305	310	315
[2421]	Cys Val His Gln Ala Leu Lys Gly Phe Thr Thr Lys Gly Val Thr Ser		
[2422]		325	330
[2423]	Val Ser Gln Ile Phe His Ser Pro Asp Leu Ala Ile Arg Asp Thr Phe		
[2424]		340	345
[2425]	Val Asn Ala Ser Arg Thr Leu Tyr Ser Ser Ser Pro Arg Val Leu Ser		
[2426]		355	360
[2427]	Asn Asn Ser Asp Ala Asn Leu Glu Leu Ile Asn Thr Trp Val Ala Lys		
[2428]		370	375
[2429]	Asn Thr Asn Asn Lys Ile Ser Arg Leu Leu Asp Ser Leu Pro Ser Asp		
[2430]	385	390	395
[2431]	Thr Arg Leu Val Leu Leu Asn Ala Ile Tyr Leu Ser Ala Lys Trp Lys		
[2432]		405	410
[2433]	Thr Thr Phe Asp Pro Lys Lys Thr Arg Met Glu Pro Phe His Phe Lys		
[2434]		420	425
[2435]	Asn Ser Val Ile Lys Val Pro Met Met Asn Ser Lys Lys Tyr Pro Val		
[2436]		435	440
[2437]	Ala His Phe Ile Asp Gln Thr Leu Lys Ala Lys Val Gly Gln Leu Gln		
[2438]		450	455
[2439]	Leu Ser His Asn Leu Ser Leu Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys		
[2440]	465	470	475
[2441]	His Arg Leu Glu Asp Met Glu Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys		
[2442]		485	490
[2443]	Ala Ile Met Glu Lys Leu Glu Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu		
[2444]		500	505
[2445]	Thr Leu Pro Arg Ile Lys Val Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile		
[2446]		515	520
[2447]	Met Glu Lys Leu Glu Phe Phe Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys		
[2448]		530	535
[2449]	Gly Leu Thr Glu Asp Pro Asp Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln		
[2450]	545	550	555
[2451]	Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser		
[2452]		565	570
[2453]	Ala Ile Ser Val Ala Arg Thr Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro		
[2454]		580	585
[2455]	Phe Leu Phe Val Leu Trp Asp Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met		
[2456]		595	600

[2457]	Gly Arg Val Tyr Asp Pro Arg Ala
[2458]	610 615
[2459]	<210> 32
[2460]	<211> 707
[2461]	<212> PRT
[2462]	<213> 人造序列
[2463]	<220>
[2464]	<223> 人造序列描述:合成多肽
[2465]	<400> 32
[2466]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe
[2467]	1 5 10 15
[2468]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr
[2469]	20 25 30
[2470]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val
[2471]	35 40 45
[2472]	Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val
[2473]	50 55 60
[2474]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser
[2475]	65 70 75 80
[2476]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu
[2477]	85 90 95
[2478]	Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser
[2479]	100 105 110
[2480]	Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro
[2481]	115 120 125
[2482]	Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln
[2483]	130 135 140
[2484]	Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala
[2485]	145 150 155 160
[2486]	Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr
[2487]	165 170 175
[2488]	Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu
[2489]	180 185 190
[2490]	Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser
[2491]	195 200 205
[2492]	Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser
[2493]	210 215 220
[2494]	Leu Ser Leu Gly Lys Asn Pro Asn Ala Thr Ser Ser Ser Ser Gln Asp
[2495]	225 230 235 240

[2496]	Pro	Glu	Ser	Leu	Gln	Asp	Arg	Gly	Glu	Gly	Lys	Val	Ala	Thr	Thr	Val
[2497]					245					250					255	
[2498]	Ile	Ser	Lys	Met	Leu	Phe	Val	Glu	Pro	Ile	Leu	Glu	Val	Ser	Ser	Leu
[2499]				260					265						270	
[2500]	Pro	Thr	Thr	Asn	Ser	Thr	Thr	Asn	Ser	Ala	Thr	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn
[2501]				275					280						285	
[2502]	Thr	Thr	Asp	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Glu	Pro	Thr	Thr	Gln
[2503]			290					295					300			
[2504]	Pro	Thr	Ile	Gln	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gln	Leu	Pro	Thr	Asp	Ser
[2505]	305					310					315					320
[2506]	Pro	Thr	Gln	Pro	Thr	Thr	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu
[2507]					325					330						335
[2508]	Cys	Ser	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala
[2509]				340					345						350	
[2510]	Leu	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys
[2511]			355						360						365	
[2512]	Lys	Val	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu
[2513]			370					375						380		
[2514]	Leu	Thr	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu
[2515]	385					390					395					400
[2516]	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala
[2517]					405					410						415
[2518]	Leu	Lys	Gly	Phe	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe
[2519]				420					425						430	
[2520]	His	Ser	Pro	Asp	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg
[2521]				435					440						445	
[2522]	Thr	Leu	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala
[2523]			450					455						460		
[2524]	Asn	Leu	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys
[2525]	465					470					475					480
[2526]	Ile	Ser	Arg	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu
[2527]					485					490						495
[2528]	Leu	Asn	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro
[2529]				500					505						510	
[2530]	Lys	Lys	Thr	Arg	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys
[2531]				515					520						525	
[2532]	Val	Pro	Met	Met	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp
[2533]			530						535						540	
[2534]	Gln	Thr	Leu	Lys	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu

[2535]	545	550	555	560
[2536]	Ser Leu Val Ile Leu Val Pro Gln Asn Leu Lys His Arg Leu Glu Asp			
[2537]	565	570	575	
[2538]	Met Glu Gln Ala Leu Ser Pro Ser Val Phe Lys Ala Ile Met Glu Lys			
[2539]	580	585	590	
[2540]	Leu Glu Met Ser Lys Phe Gln Pro Thr Leu Leu Thr Leu Pro Arg Ile			
[2541]	595	600	605	
[2542]	Lys Val Thr Thr Ser Gln Asp Met Leu Ser Ile Met Glu Lys Leu Glu			
[2543]	610	615	620	
[2544]	Phe Phe Asp Phe Ser Tyr Asp Leu Asn Leu Cys Gly Leu Thr Glu Asp			
[2545]	625	630	635	640
[2546]	Pro Asp Leu Gln Val Ser Ala Met Gln His Gln Thr Val Leu Glu Leu			
[2547]	645	650	655	
[2548]	Thr Glu Thr Gly Val Glu Ala Ala Ala Ala Ser Ala Ile Ser Val Ala			
[2549]	660	665	670	
[2550]	Arg Thr Leu Leu Val Phe Glu Val Gln Gln Pro Phe Leu Phe Val Leu			
[2551]	675	680	685	
[2552]	Trp Asp Gln Gln His Lys Phe Pro Val Phe Met Gly Arg Val Tyr Asp			
[2553]	690	695	700	
[2554]	Pro Arg Ala			
[2555]	705			
[2556]	<210> 33			
[2557]	<211> 610			
[2558]	<212> PRT			
[2559]	<213> 人造序列			
[2560]	<220>			
[2561]	<223> 人造序列描述:合成多肽			
[2562]	<400> 33			
[2563]	Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe			
[2564]	1	5	10	15
[2565]	Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr			
[2566]	20	25	30	
[2567]	Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val			
[2568]	35	40	45	
[2569]	Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val			
[2570]	50	55	60	
[2571]	Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser			
[2572]	65	70	75	80
[2573]	Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu			

[2574]					85					90					95		
[2575]	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ser	
[2576]						100					105				110		
[2577]	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	
[2578]						115					120				125		
[2579]	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	
[2580]						130					135				140		
[2581]	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	
[2582]	145							150				155				160	
[2583]	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	
[2584]						165					170				175		
[2585]	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Arg	Leu	
[2586]						180					185				190		
[2587]	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	
[2588]						195					200				205		
[2589]	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	
[2590]						210					215				220		
[2591]	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys	Gly	Ser	Phe	Cys	Pro	Gly	Pro	Val	Thr	Leu	Cys	
[2592]	225							230				235				240	
[2593]	Ser	Asp	Leu	Glu	Ser	His	Ser	Thr	Glu	Ala	Val	Leu	Gly	Asp	Ala	Leu	
[2594]						245					250				255		
[2595]	Val	Asp	Phe	Ser	Leu	Lys	Leu	Tyr	His	Ala	Phe	Ser	Ala	Met	Lys	Lys	
[2596]						260					265				270		
[2597]	Val	Glu	Thr	Asn	Met	Ala	Phe	Ser	Pro	Phe	Ser	Ile	Ala	Ser	Leu	Leu	
[2598]						275					280				285		
[2599]	Thr	Gln	Val	Leu	Leu	Gly	Ala	Gly	Glu	Asn	Thr	Lys	Thr	Asn	Leu	Glu	
[2600]						290					295				300		
[2601]	Ser	Ile	Leu	Ser	Tyr	Pro	Lys	Asp	Phe	Thr	Cys	Val	His	Gln	Ala	Leu	
[2602]	305							310				315				320	
[2603]	Lys	Gly	Phe	Thr	Thr	Lys	Gly	Val	Thr	Ser	Val	Ser	Gln	Ile	Phe	His	
[2604]						325					330				335		
[2605]	Ser	Pro	Asp	Leu	Ala	Ile	Arg	Asp	Thr	Phe	Val	Asn	Ala	Ser	Arg	Thr	
[2606]						340					345				350		
[2607]	Leu	Tyr	Ser	Ser	Ser	Pro	Arg	Val	Leu	Ser	Asn	Asn	Ser	Asp	Ala	Asn	
[2608]						355					360				365		
[2609]	Leu	Glu	Leu	Ile	Asn	Thr	Trp	Val	Ala	Lys	Asn	Thr	Asn	Asn	Lys	Ile	
[2610]						370					375				380		
[2611]	Ser	Arg	Leu	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Ser	Asp	Thr	Arg	Leu	Val	Leu	Leu	
[2612]	385							390				395				400	

[2613]	Asn	Ala	Ile	Tyr	Leu	Ser	Ala	Lys	Trp	Lys	Thr	Thr	Phe	Asp	Pro	Lys
[2614]					405				410						415	
[2615]	Lys	Thr	Arg	Met	Glu	Pro	Phe	His	Phe	Lys	Asn	Ser	Val	Ile	Lys	Val
[2616]					420				425						430	
[2617]	Pro	Met	Met	Asn	Ser	Lys	Lys	Tyr	Pro	Val	Ala	His	Phe	Ile	Asp	Gln
[2618]					435				440						445	
[2619]	Thr	Leu	Lys	Ala	Lys	Val	Gly	Gln	Leu	Gln	Leu	Ser	His	Asn	Leu	Ser
[2620]		450						455							460	
[2621]	Leu	Val	Ile	Leu	Val	Pro	Gln	Asn	Leu	Lys	His	Arg	Leu	Glu	Asp	Met
[2622]	465					470					475					480
[2623]	Glu	Gln	Ala	Leu	Ser	Pro	Ser	Val	Phe	Lys	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Leu
[2624]					485					490						495
[2625]	Glu	Met	Ser	Lys	Phe	Gln	Pro	Thr	Leu	Leu	Thr	Leu	Pro	Arg	Ile	Lys
[2626]				500					505						510	
[2627]	Val	Thr	Thr	Ser	Gln	Asp	Met	Leu	Ser	Ile	Met	Glu	Lys	Leu	Glu	Phe
[2628]				515					520						525	
[2629]	Phe	Asp	Phe	Ser	Tyr	Asp	Leu	Asn	Leu	Cys	Gly	Leu	Thr	Glu	Asp	Pro
[2630]		530					535							540		
[2631]	Asp	Leu	Gln	Val	Ser	Ala	Met	Gln	His	Gln	Thr	Val	Leu	Glu	Leu	Thr
[2632]	545					550					555					560
[2633]	Glu	Thr	Gly	Val	Glu	Ala	Ala	Ala	Ala	Ser	Ala	Ile	Ser	Val	Ala	Arg
[2634]					565					570						575
[2635]	Thr	Leu	Leu	Val	Phe	Glu	Val	Gln	Gln	Pro	Phe	Leu	Phe	Val	Leu	Trp
[2636]				580					585						590	
[2637]	Asp	Gln	Gln	His	Lys	Phe	Pro	Val	Phe	Met	Gly	Arg	Val	Tyr	Asp	Pro
[2638]			595					600						605		
[2639]	Arg	Ala														
[2640]		610														
[2641]	<210>	34														
[2642]	<211>	21														
[2643]	<212>	PRT														
[2644]	<213>	人造序列														
[2645]	<220>															
[2646]	<223>	人造序列描述:合成多肽														
[2647]	<400>	34														
[2648]	Gly	Ala	Pro	Gly	Gly	Gly	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly
[2649]	1				5				10					15		
[2650]	Gly	Gly	Gly	Ala	Pro											
[2651]					20											

[2652]	<210>	35
[2653]	<211>	39
[2654]	<212>	PRT
[2655]	<213>	人造序列
[2656]	<220>	
[2657]	<223>	人造序列描述:合成多肽
[2658]	<400>	35
[2659]	Gly Ala Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Gly	
[2660]	1	5 10 15
[2661]	Gly Gly Gly Ala Pro Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly	
[2662]	20	25 30
[2663]	Gly Gly Gly Gly Gly Ala Pro	
[2664]	35	
[2665]	<210>	36
[2666]	<211>	57
[2667]	<212>	PRT
[2668]	<213>	人造序列
[2669]	<220>	
[2670]	<223>	人造序列描述:合成多肽
[2671]	<400>	36
[2672]	Gly Ala Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Gly Gly	
[2673]	1	5 10 15
[2674]	Gly Gly Gly Ala Pro Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly	
[2675]	20	25 30
[2676]	Gly Gly Gly Gly Gly Ala Pro Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Ala Ala Ala	
[2677]	35	40 45
[2678]	Ala Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Pro	
[2679]	50	55
[2680]	<210>	37
[2681]	<211>	9
[2682]	<212>	PRT
[2683]	<213>	人造序列
[2684]	<220>	
[2685]	<223>	人造序列描述:合成多肽
[2686]	<400>	37
[2687]	Ala Leu Glu Val Leu Phe Gln Gly Pro	
[2688]	1	5
[2689]	<210>	38
[2690]	<211>	5

[2691] <212> PRT
[2692] <213> 人造序列
[2693] <220>
[2694] <223> 人造序列描述:合成多肽
[2695] <400> 38
[2696] Gly Gly Gly Gly Ser
[2697] 1 5

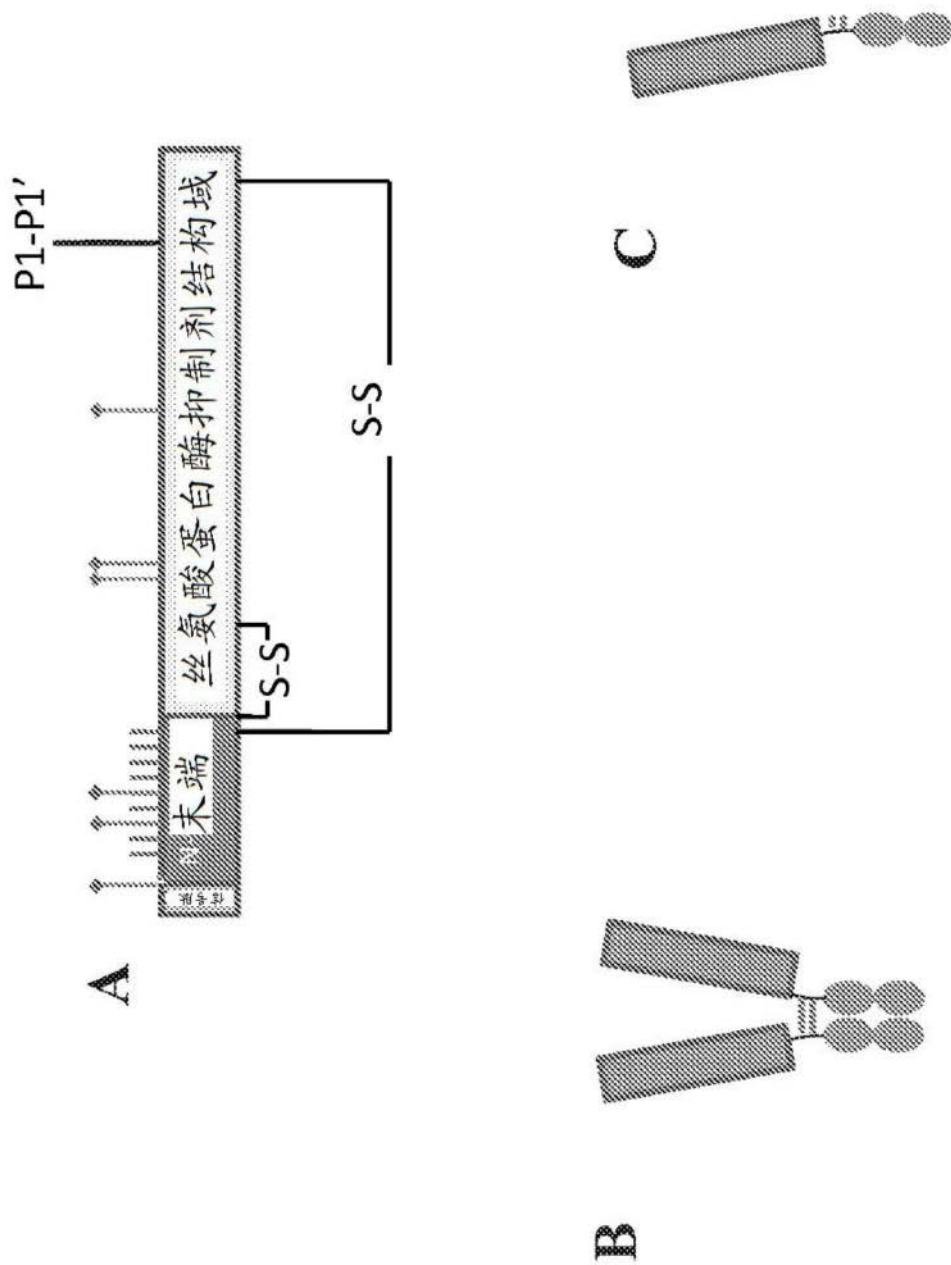


图1

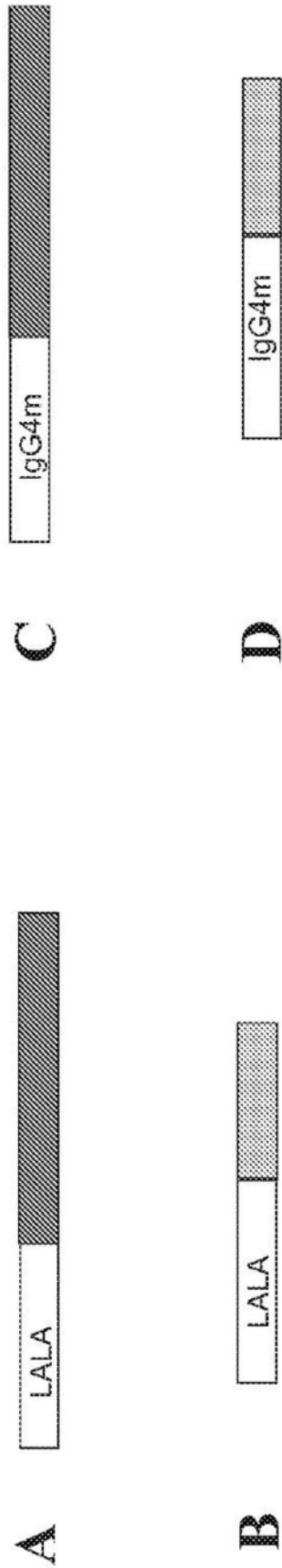


图2

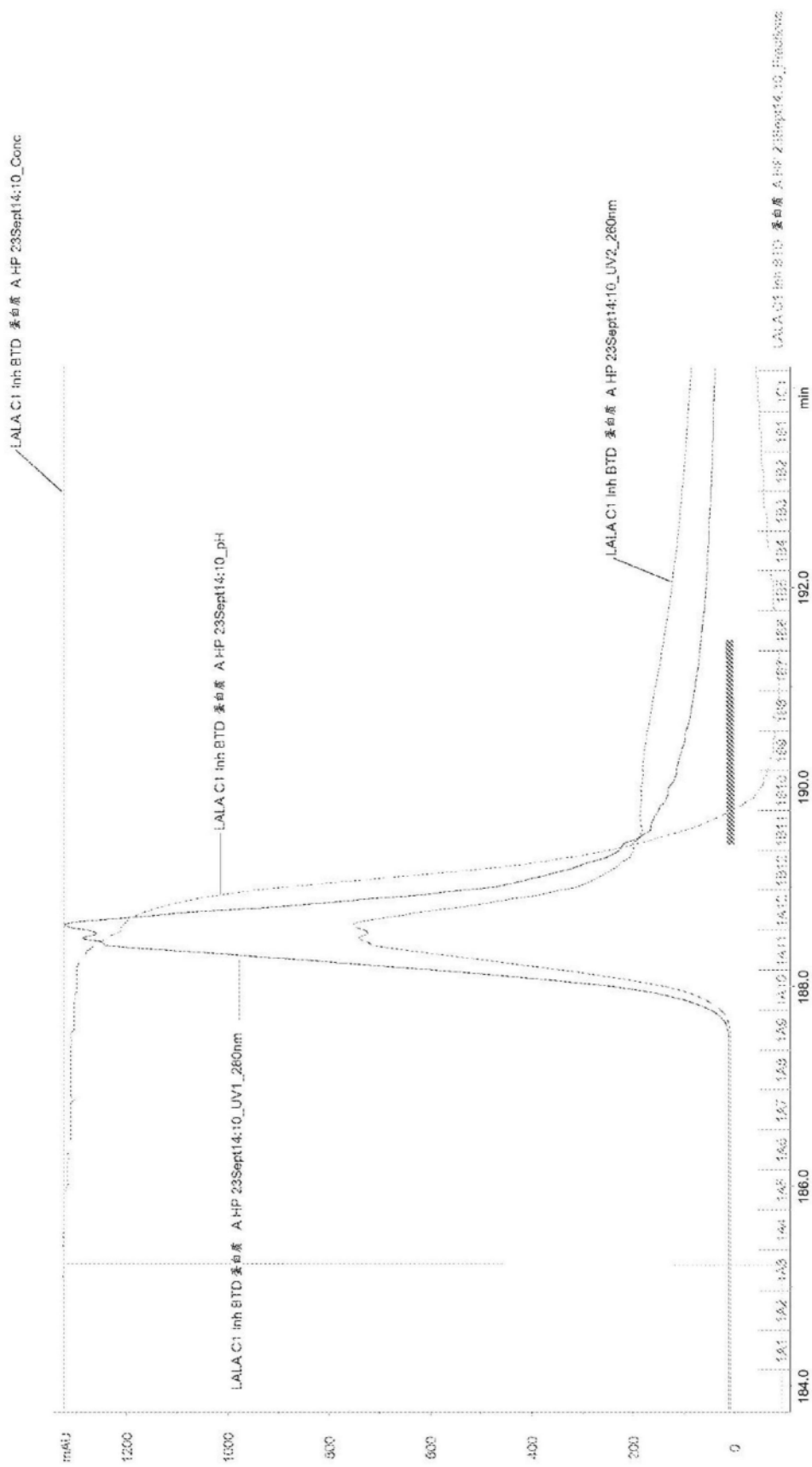


图3

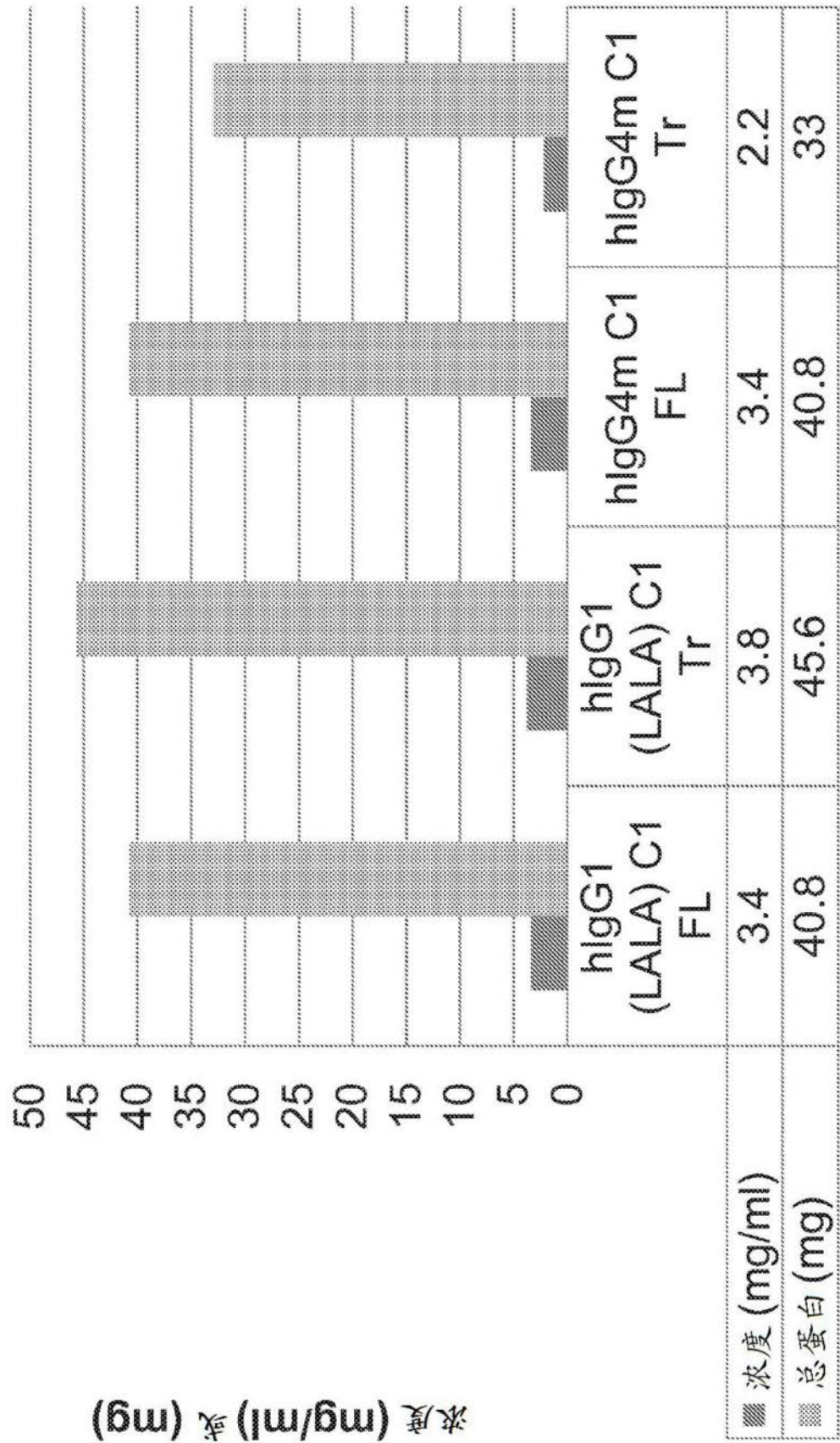


图4

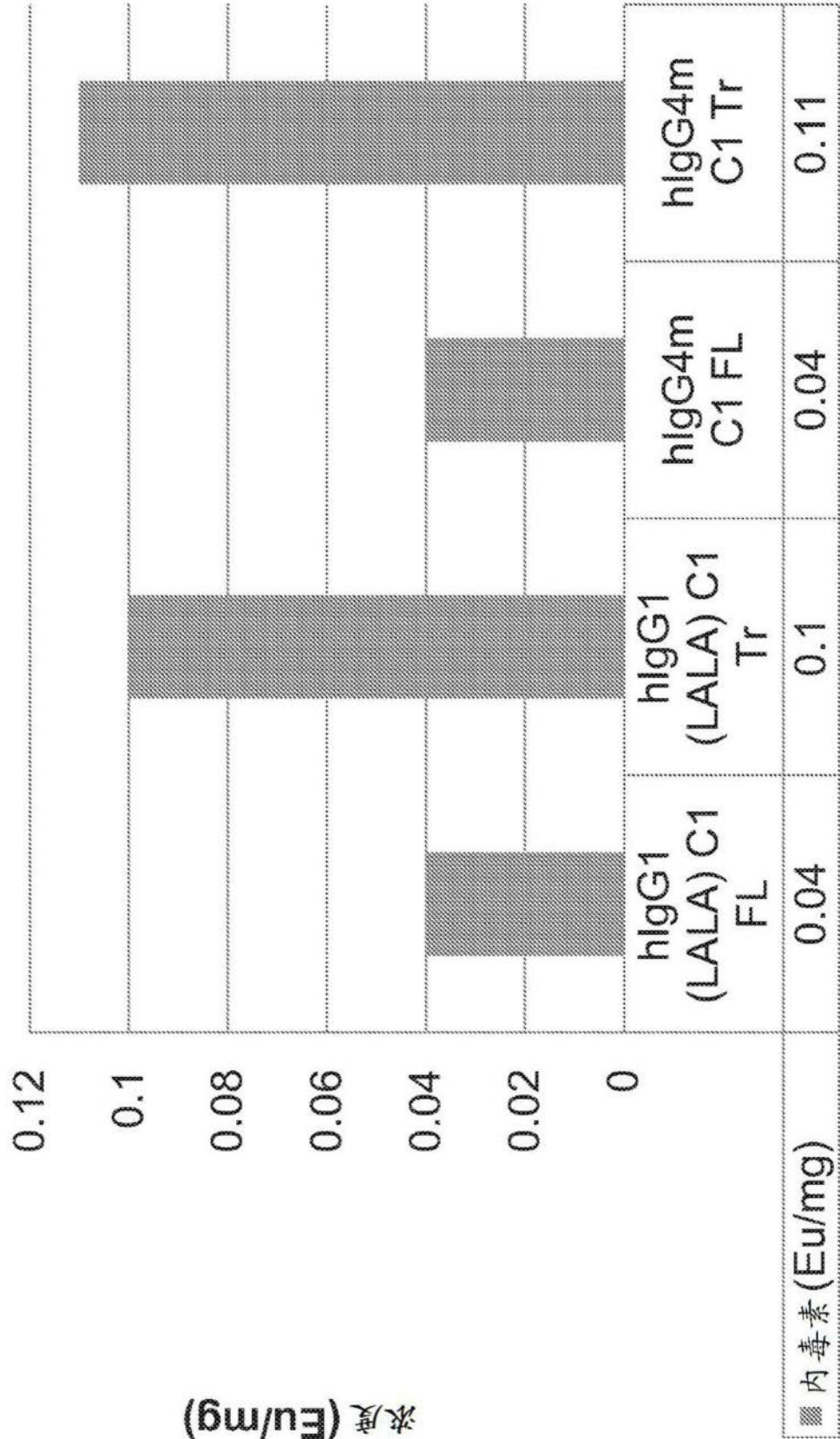


图5

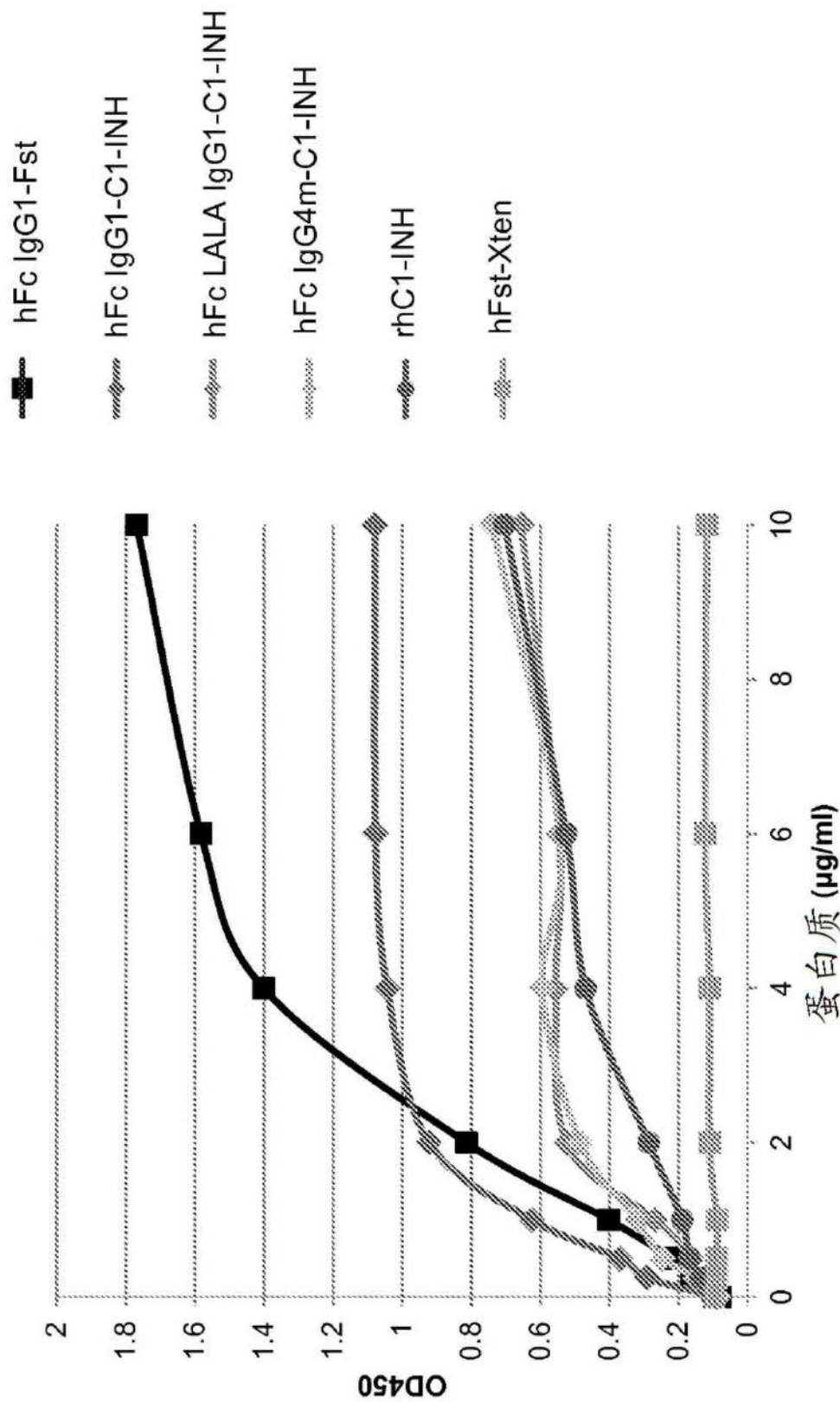


图9

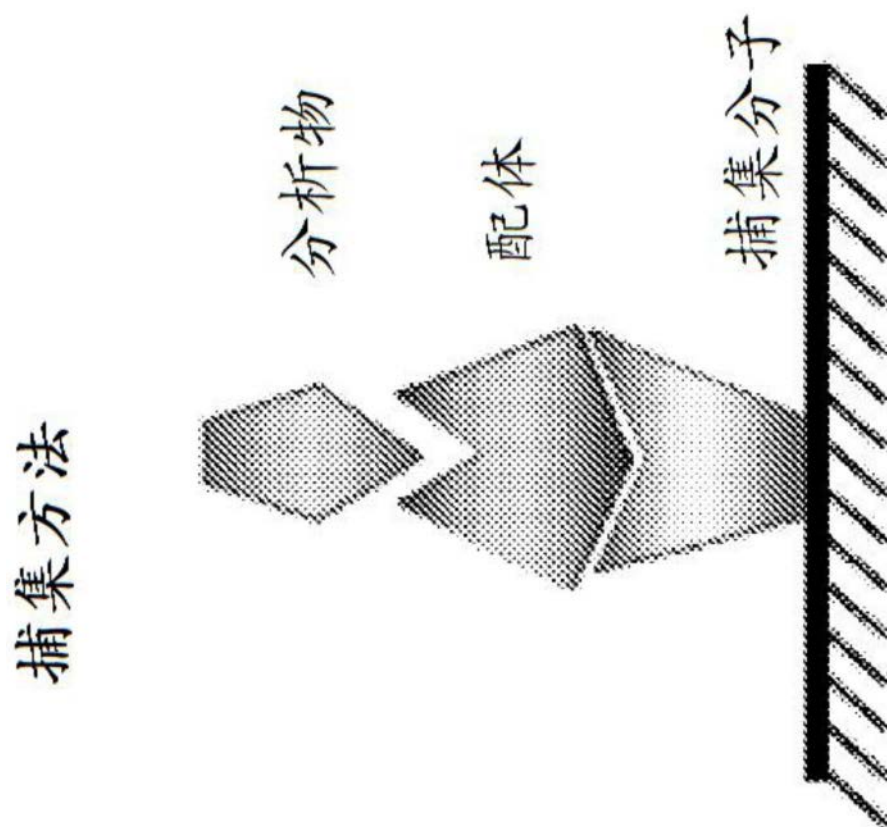


图7

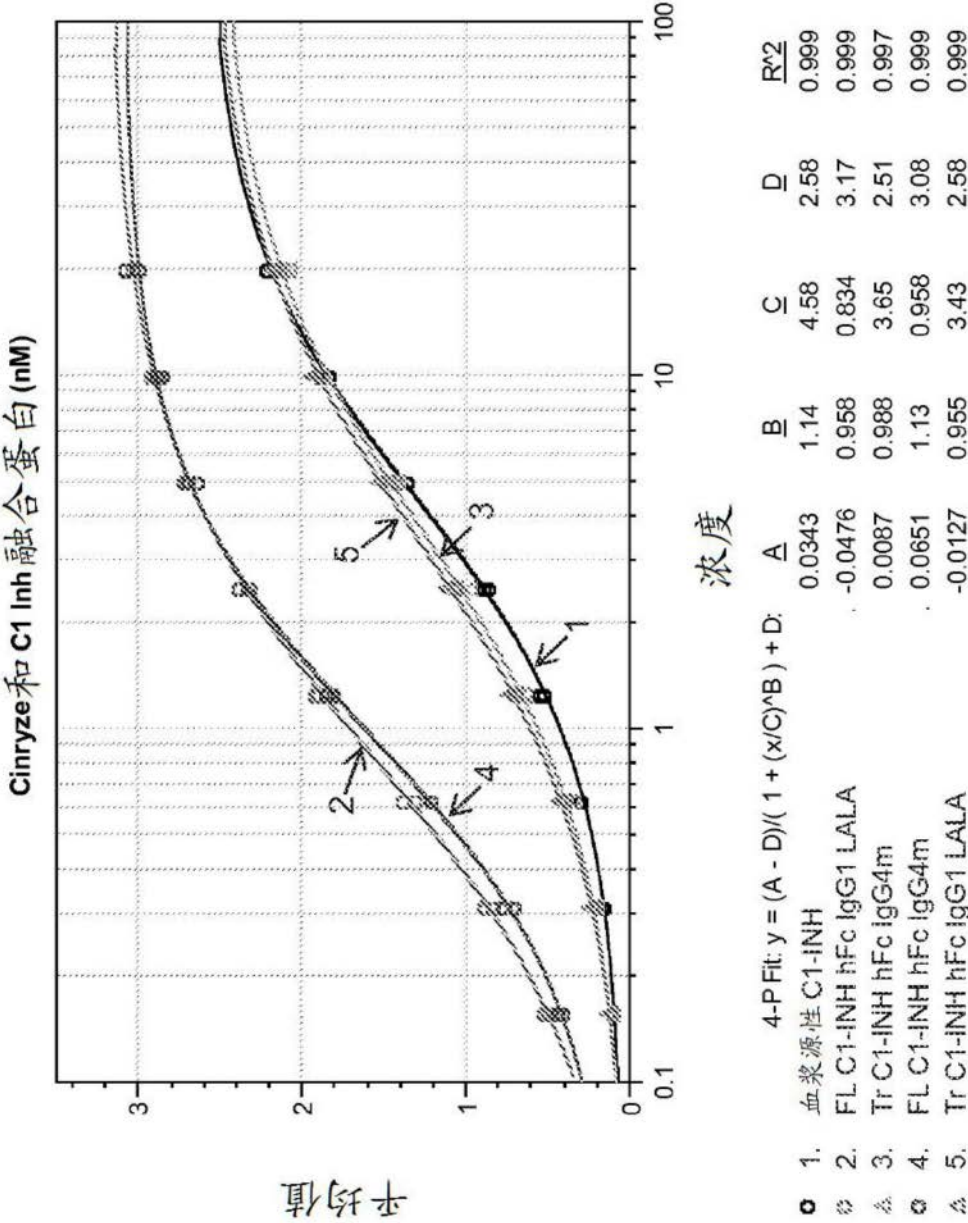


图8

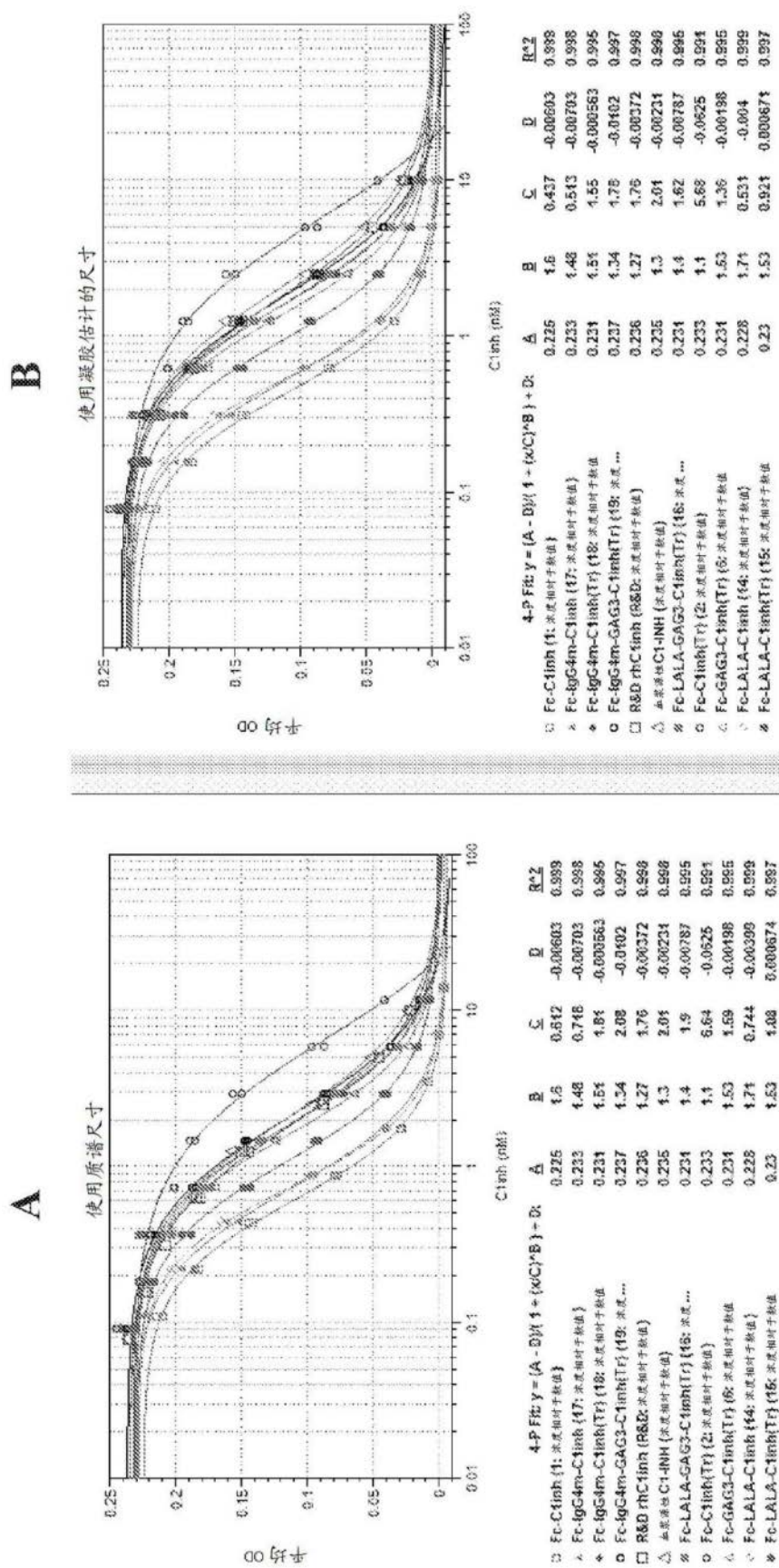


图9

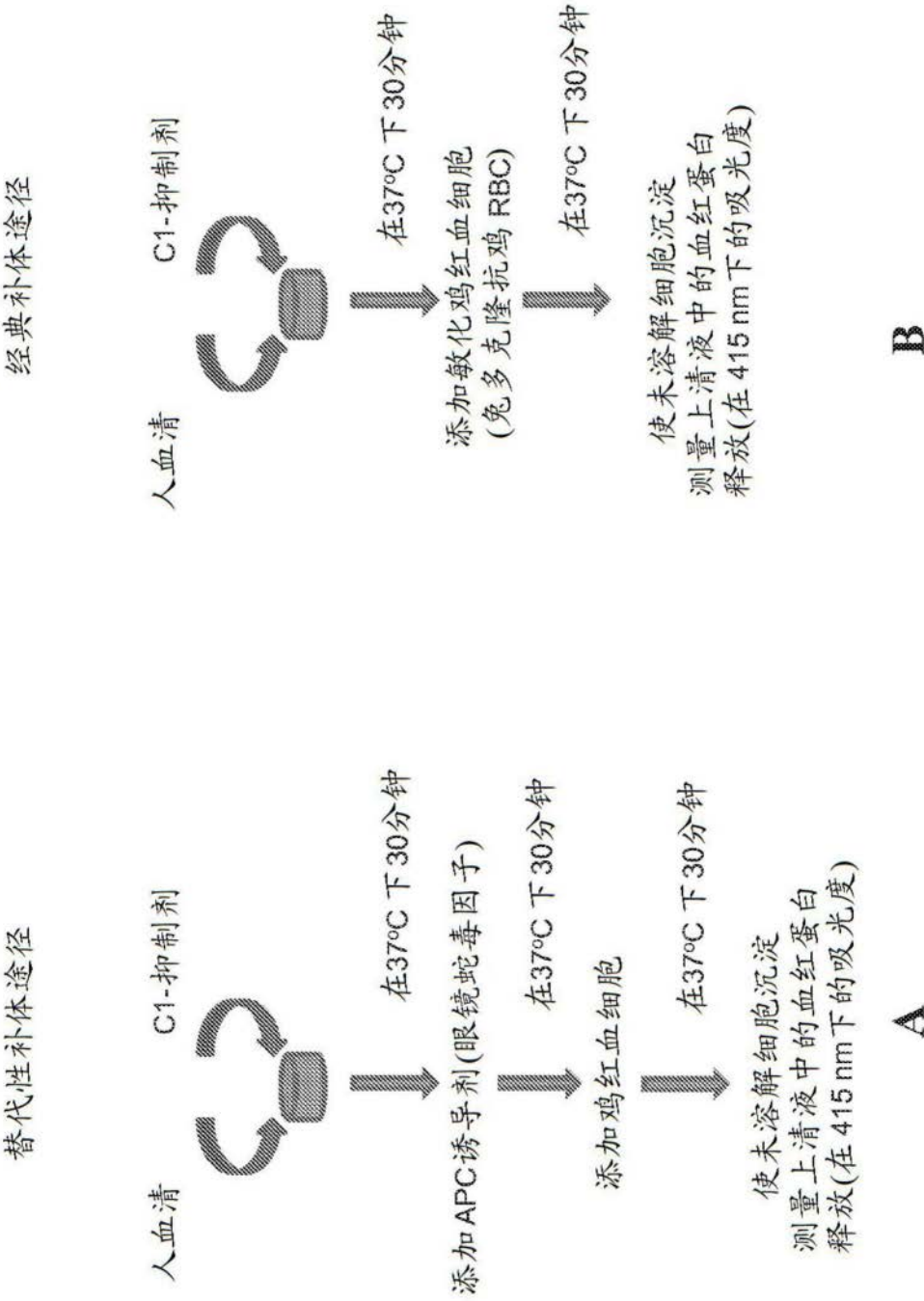


图10

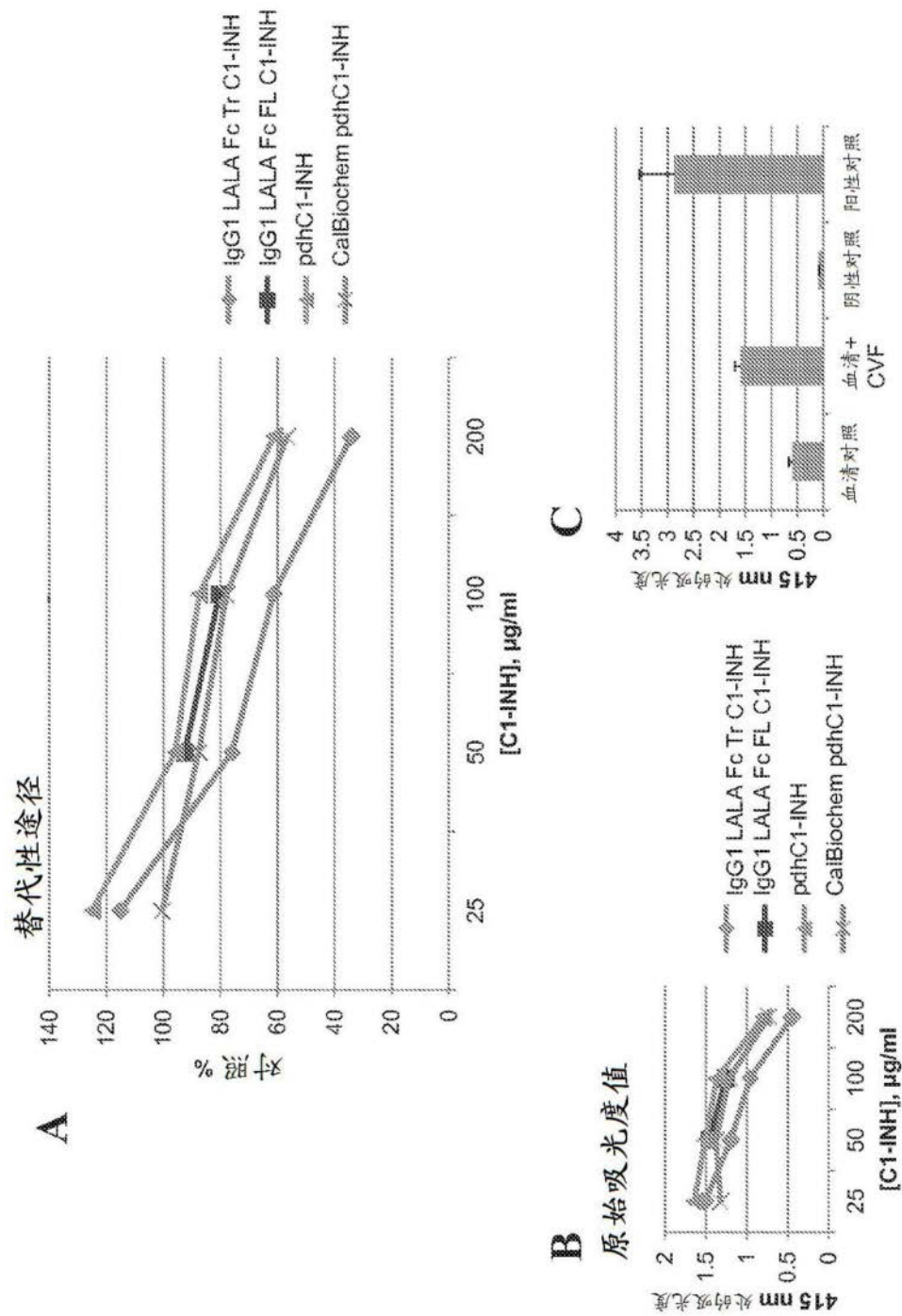


图11

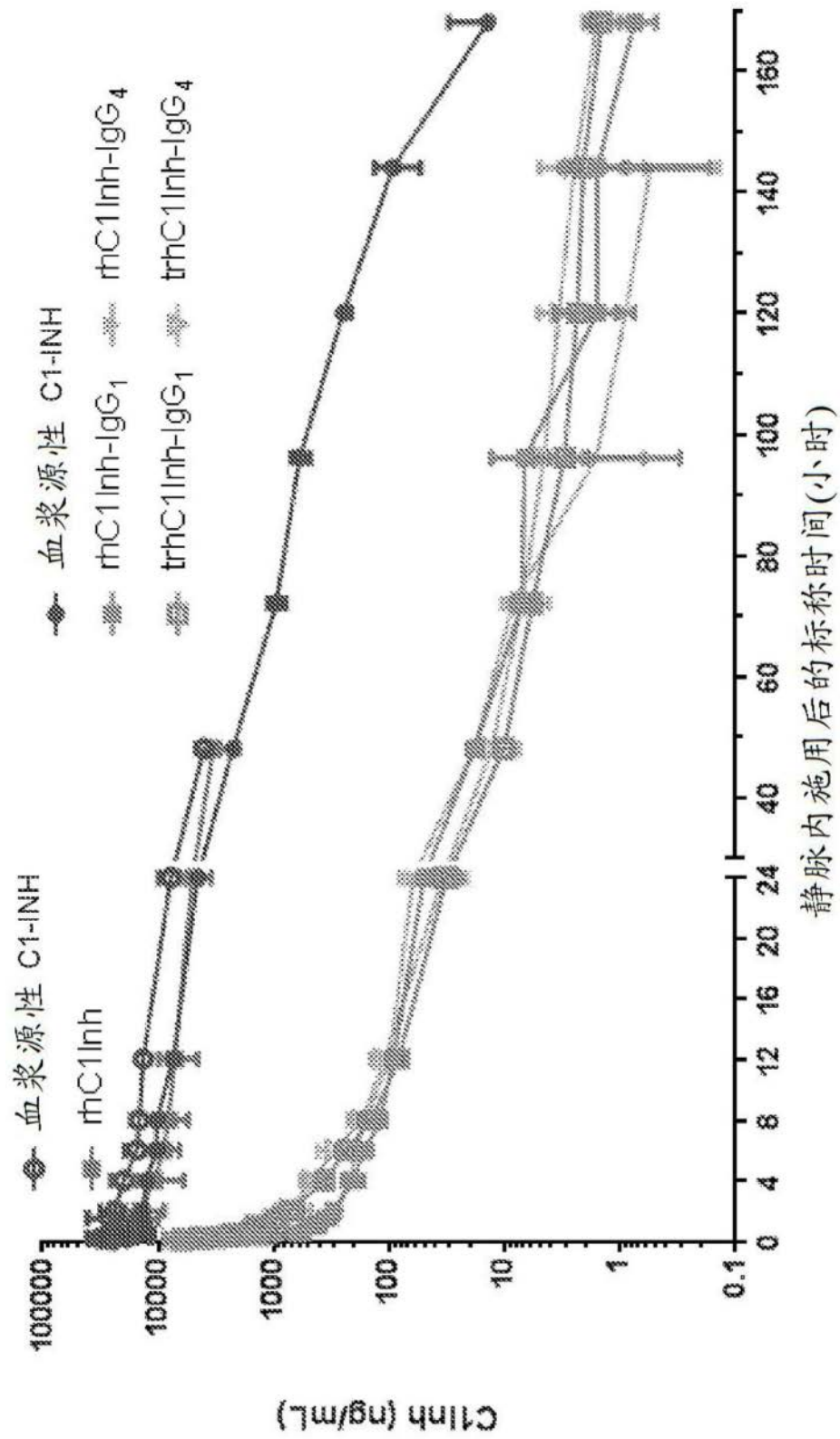


图12

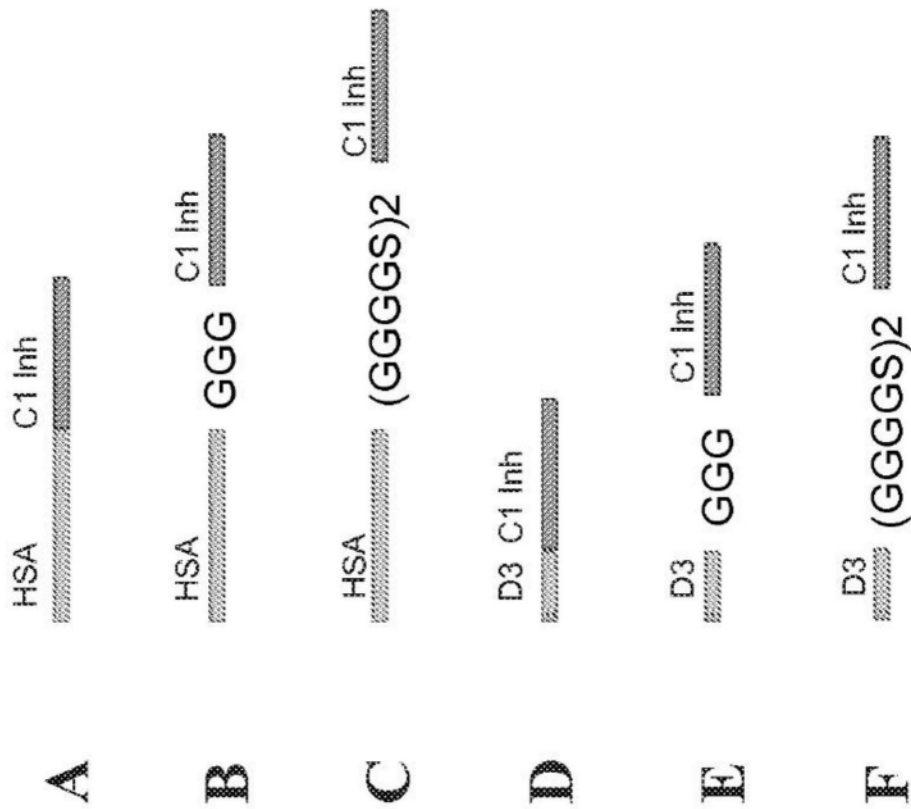


图13

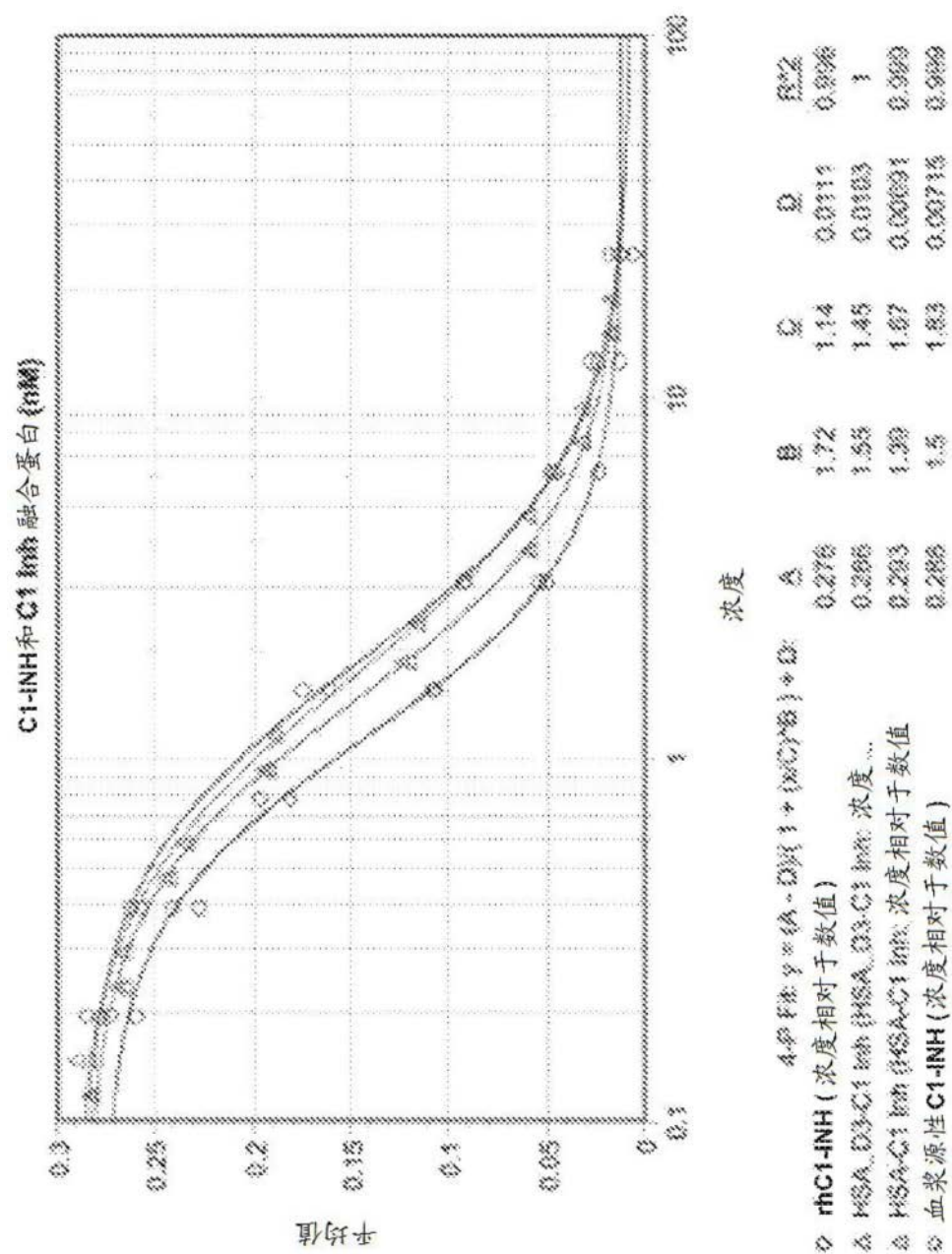


图14