



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115803333 A

(43) 申请公布日 2023. 03. 14

(21) 申请号 202180047695.7

(22) 申请日 2021.07.01

(30) 优先权数据

63/047,465 2020.07.02 US

63/197,607 2021.06.07 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.12.30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/040037 2021.07.01

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/006368 EN 2022.01.06

(71) 申请人 生命技术公司

地址 美国加利福尼亚

(72) 发明人 A·科尔 S·安娜玛莱 S·牧田

R·波特 T·冯德费希特

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所

有限公司 11038

专利代理师 傅宇昌

(51) Int.Cl.

C07H 21/00 (2006.01)

权利要求书14页 说明书80页

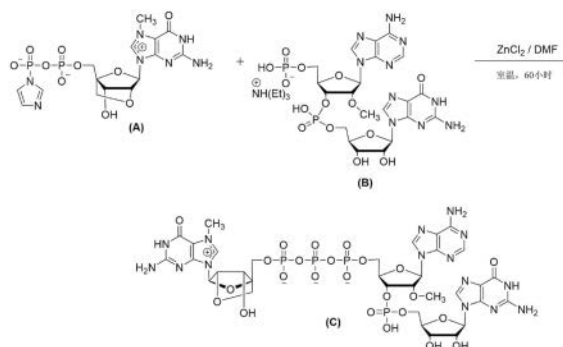
序列表168页 附图21页

(54) 发明名称

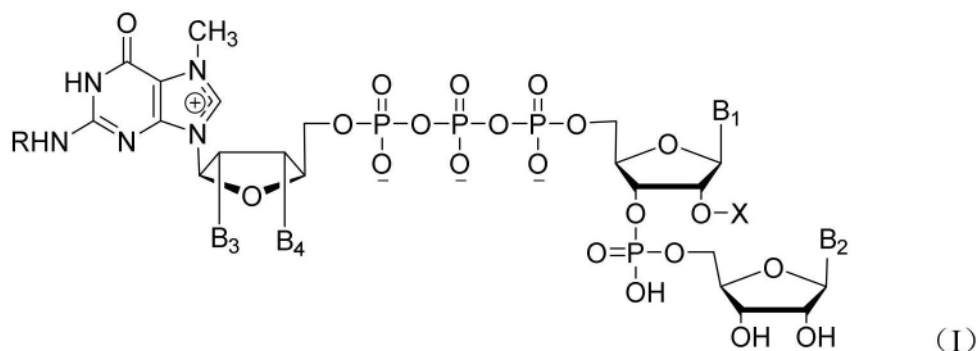
三核苷酸帽类似物、其制备和用途

(57) 摘要

本说明书总体上涉及三核苷酸RNA帽类似物、其使用方法和包括所述三核苷酸RNA帽类似物的试剂盒。具体地,本文所提供的三核苷酸帽类似物允许在体外容易地检测和/或分离封端RNA转录物并在体内翻译封端mRNA。



1.一种式(I)的三核苷酸帽类似物,



其中

B₂选自-OH、卤素、染料、-OR¹,

其中R¹选自炔丙基、叔丁基二甲基甲硅烷基和具有4'C的亚甲基桥;

B₁选自-OH、染料和-OR²,其中R²选自炔丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基;

或者R¹与R²连接,使得B₃和B₄形成-2',3'-O-异亚丙基;

条件是 B_3 和 B_4 两者不能都是-OH;

X选自-H和-CH₃;

B₁和B₂各自独立地选自腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶；

R选自H、接头结合的细胞穿透肽、与染料共价连接的接头结合的细胞穿透肽和接头结合的染料。

2. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中R选自:

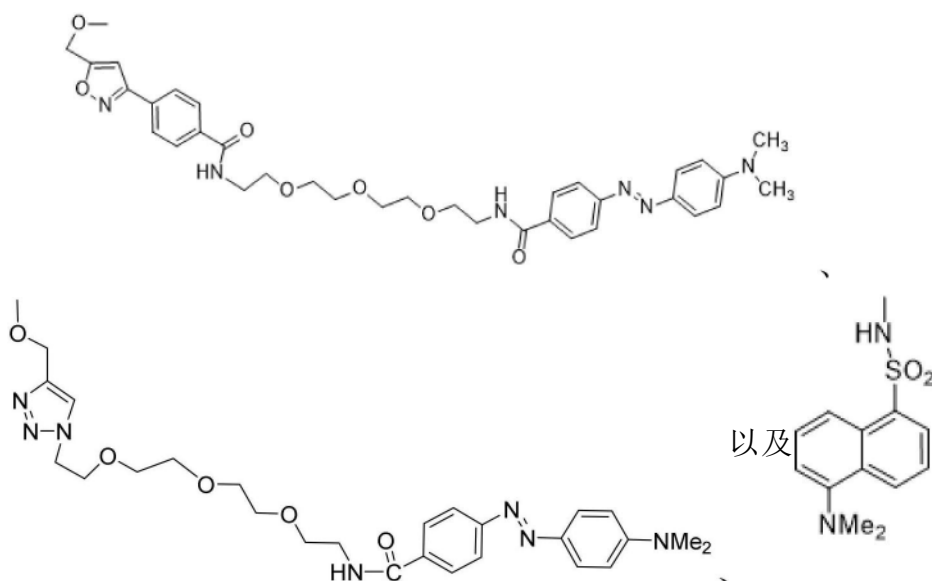
(a) 接头结合的细胞穿透肽, 其中所述细胞穿透肽选自SEQ ID NO:1-583中的任一个;

(b) 与染料共价连接的接头结合的细胞穿透肽,其中所述细胞穿透肽选自SEQ ID NO: 1-583中的任一个;以及

(c) 接头结合的染料。

3. 根据权利要求1或2所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自偶氮苯染料、含蒽染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和芘染料。

4. 根据权利要求1至3中任一项所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自



5. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

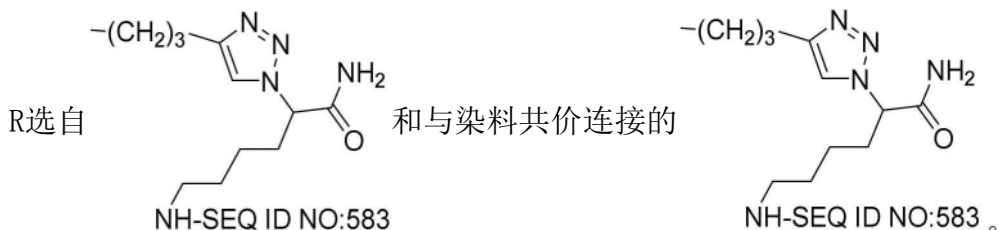
B_3 是 $-OR^1$ 并且 B_4 是 $-OR^2$, 其中 R^1 与 R^2 连接, 使得 B_3 和 B_4 形成-2', 3'-O-异亚丙基;

X是 $-CH_3$; 并且

R是H。

6. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

B_3 是 $-OR^1$ 并且 B_4 是 $-OR^2$, 其中 R^1 与 R^2 连接, 使得 B_3 和 B_4 形成-2', 3'-O-异亚丙基; 并且



7. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

B_3 选自 $-OR^1$, 其中 R^1 选自炔丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基;

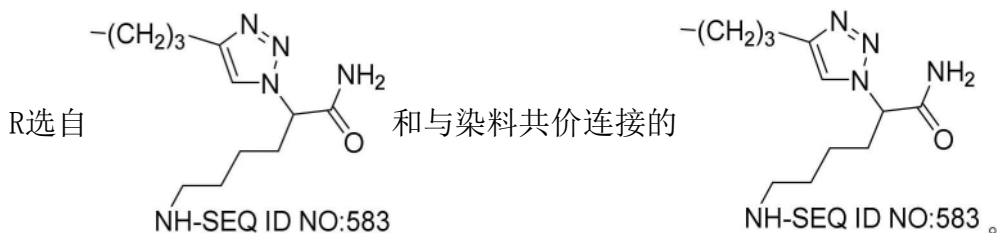
B_4 是 $-OH$; 并且

R是H。

8. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

B_3 选自 $-OR^1$, 其中 R^1 选自炔丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基;

B_4 是 $-OH$; 并且



9. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

B_3 是染料;

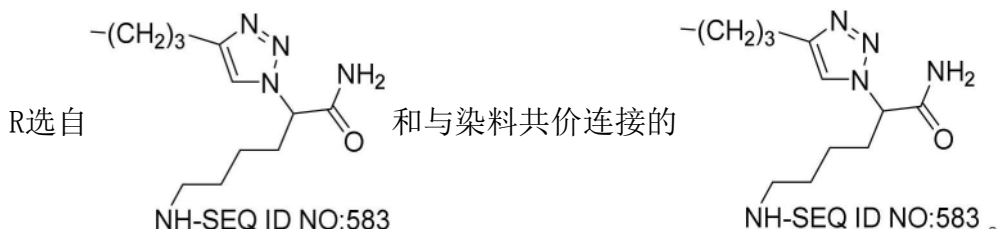
B_4 是 $-OH$; 并且

R是H。

10. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

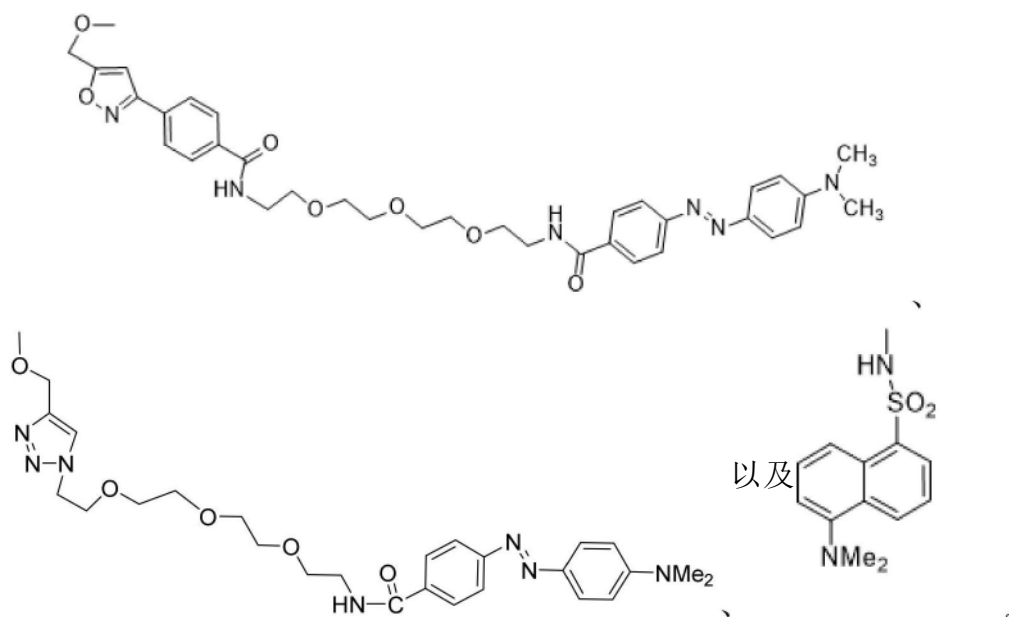
B_3 是染料;

B_4 是 $-OH$; 并且



11. 根据权利要求6或8至10中任一项所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自偶氮苯染料、含萘染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和苝染料。

12. 根据权利要求6或8至11中任一项所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自



13. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

B_3 是 $-OH$;

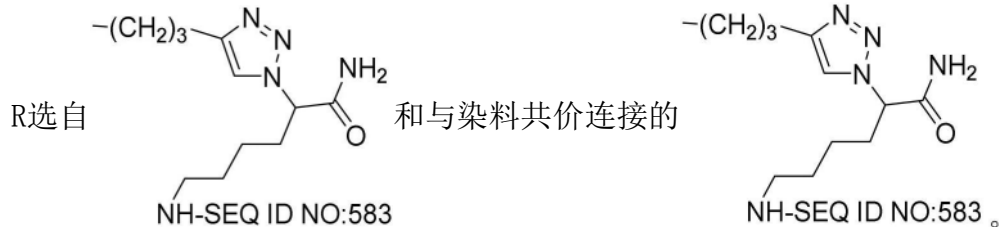
B_4 选自 $-OR^2$, 其中 R^2 选自炔丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基; 并且

R 是 H 。

14. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

B_3 是 $-OH$;

B_4 选自 $-OR^2$, 其中 R^2 选自炔丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基; 并且



15. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

B_3 是 $-OH$;

B_4 是染料;

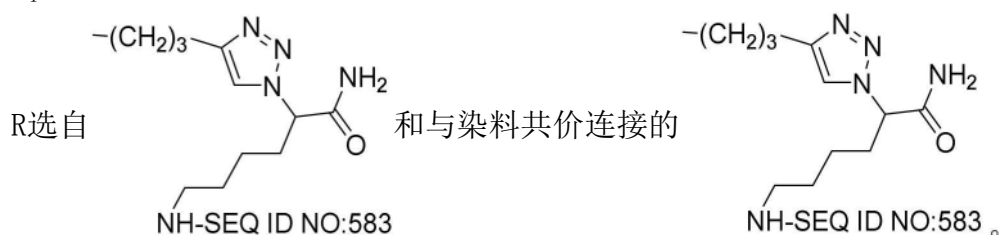
R 是 H ; 并且

$X = -CH_3$ 。

16. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中

B_3 是 $-OH$;

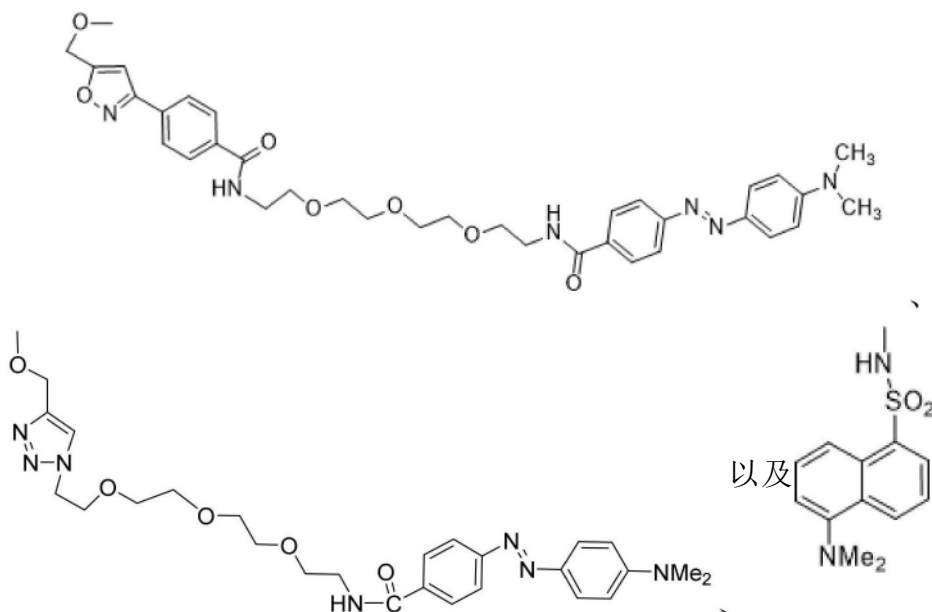
B_4 是染料; 并且



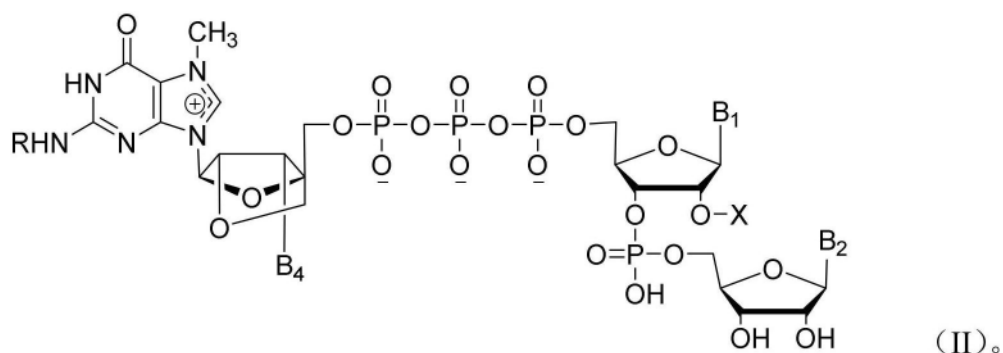
17. 根据权利要求14至16中任一项所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选

自偶氮苯染料、含萘染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和芘染料。

18. 根据权利要求14至17中任一项所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自



19. 根据权利要求1所述的三核苷酸帽类似物, 其中 B_3 是 $-OR^1$, 并且 R^1 与所述4'C形成亚甲基桥, 使得所述三核苷酸帽类似物具有式(II):



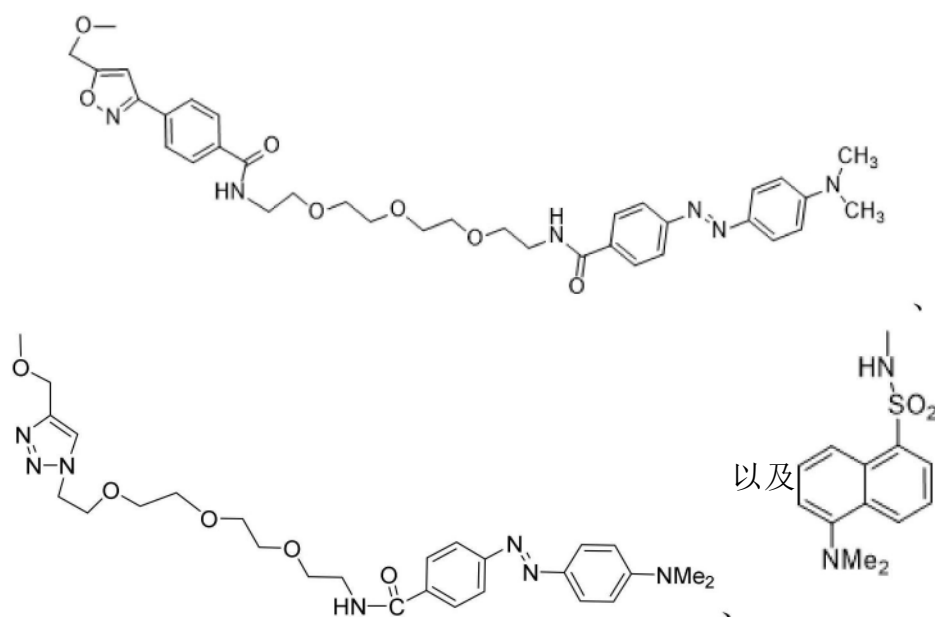
20. 根据权利要求19所述的三核苷酸帽类似物, 其中R选自:

a. 接头结合的细胞穿透肽, 其中所述细胞穿透肽选自SEQ ID NO:1-583中的任一个; 以及

b. 与染料共价连接的接头结合的细胞穿透肽, 其中所述细胞穿透肽选自SEQ ID NO:1-583中的任一个。

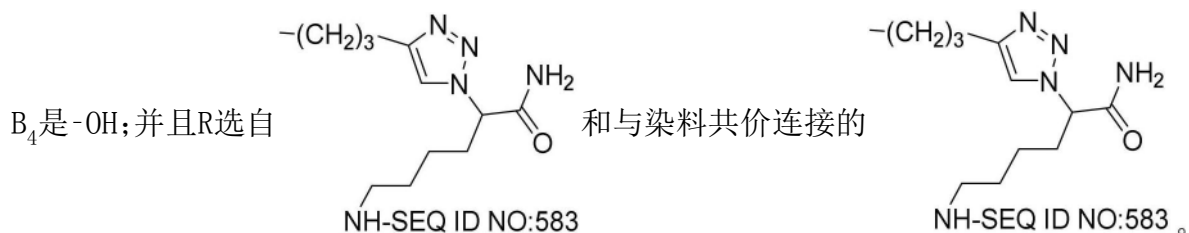
21. 根据权利要求19或20所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自偶氮苯染料、含萘染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和芘染料。

22. 根据权利要求19至21中任一项所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自



23. 根据权利要求19所述的三核苷酸帽类似物, 其中
B₄是-OH并且R是H。

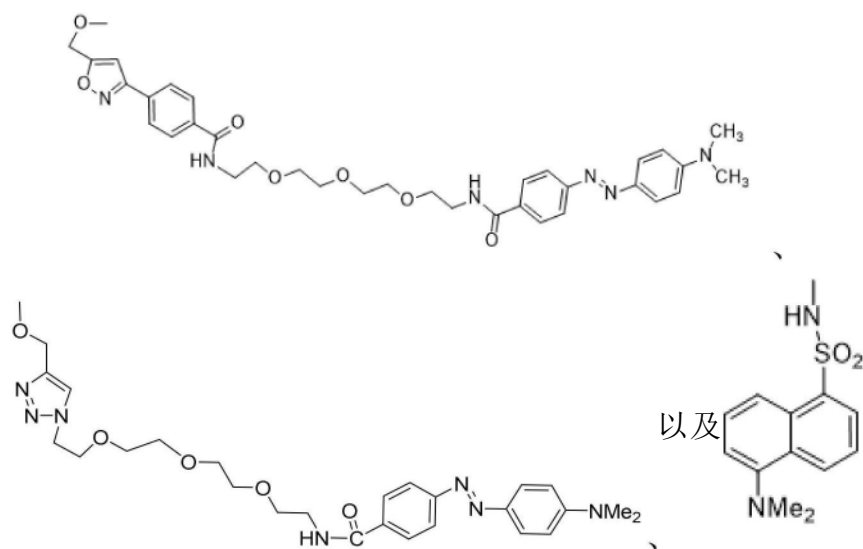
24. 根据权利要求19所述的三核苷酸帽类似物, 其中



25. 根据权利要求19所述的三核苷酸帽类似物, 其中
B₄是染料; 并且R是H。

26. 根据权利要求24或25所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自偶氮苯染料、含萘染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和苝染料。

27. 根据权利要求24至26中任一项所述的三核苷酸帽类似物, 其中每种染料独立地选自

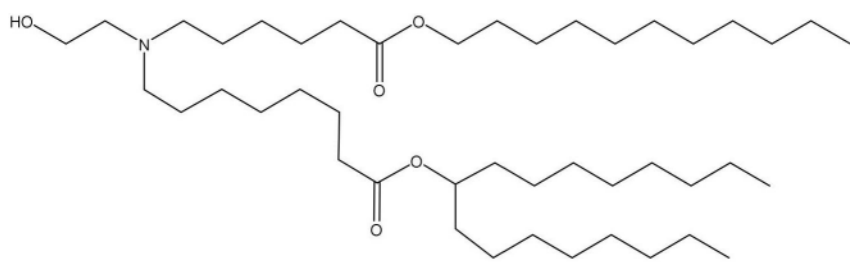


28. 一种组合物,其包括根据权利要求1至27中任一项所述的三核苷酸帽类似物。
29. 一种组合物,其包括RNA,所述RNA具有与其共价键合的根据权利要求1至27中任一项所述的三核苷酸帽类似物。
30. 根据权利要求29所述的组合物,其进一步包括至少一种RNA递送剂。
31. 根据权利要求30所述的组合物,其中所述至少一种RNA递送剂包括至少一种阳离子脂质。
32. 根据权利要求31所述的组合物,其中所述至少一种RNA递送剂进一步包括至少一种中性脂质。
33. 根据权利要求30至32中任一项所述的组合物,其中所述RNA递送剂选自细胞穿透肽。
34. 根据权利要求31所述的组合物,其中所述至少一种阳离子脂质选自:2,3-二油烯基氧基-N-[2(精胺甲酰胺基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵三氟乙酸酯(DOSPA)、1,3-二油酰基氧基-2-(6-羧基-精胺基)丙酰胺(DOSPER)、双十八烷基酰胺基-甘氨酸精胺(DOGS)、四甲基四棕榈基精胺(TMTPS)、四甲基四棕榈酰基精胺(TMTOS)、四甲基四月桂基精胺(TMTLS)、四甲基四肉豆蔻基精胺(TMTMS)、四甲基二油烯基精胺(TMDOS)、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二油酰基氧基丙基)-2-羟基丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二肉豆蔻基氧基丙基)-2-羟基丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二棕榈基氧基丙基)-2-羟基丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二油酰基氧基丙基)-2-(3-氨基-2-羟丙氧基)丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二肉豆蔻基氧基丙基)-2-(3-氨基-2-羟丙氧基)丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二棕榈基氧基丙基)-2-(3-氨基-2-羟丙氧基)丙烷-1,3-二胺、L-精胺-5-羧基-3-(DL-1,2-二棕榈酰基-二甲基氨基丙基-β-羟乙基胺)、3,5-(N,N-二赖氨酸)-二氨基苯甲酰基-甘氨酸-3-(DL-1,2-二棕榈酰基-二甲基氨基丙基-β-羟乙基胺)、L-赖氨酸-双(0,0'-油酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-赖氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-烷基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、L-赖氨酸-双(0,0'-肉豆蔻酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-鸟氨酸-双(0,0'-肉豆蔻酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-鸟氨酸-双(0,0'-油酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-油烯基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、L-鸟氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、1,4-双[(3-氨基-2-羟丙基)-油烯基氨基]-丁烷-2,3-二醇、1,4-双[(3-氨基-2-羟丙基)-棕榈基氨基]-丁烷-2,3-二醇、1,4-双[(3-氨基-2-羟丙基)-肉豆蔻基氨基]-丁烷-2,3-二醇、1,4-双[(3-油烯基氨基)丙基]哌嗪、L-精氨酸-双(0,0'-油酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、双[(3-(3-氨基丙基)-肉豆蔻基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、L-精氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-丝氨酸-双(0,0'-油酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-棕榈基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、甘氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、肌氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-组氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、胆固醇基-3β-羧基-酰胺基乙烯三甲基碘化铵、1,4-双[(3-肉豆蔻基氨基)丙基]哌嗪、1-二甲基氨基-3-三甲基铵基-DL-2-丙基-胆固醇基甲酸酯碘化物、胆固醇基-3β-羧酰胺基乙烯胺、胆固醇基-3β-氧基琥珀酰胺基乙烯三甲基碘化铵、1-二甲基氨基-3-三甲基铵基-DL-2-丙基-胆固醇基-3β-氧基琥珀酸酯碘化物、2-[2-三甲基铵基)-乙基甲基氨基]乙基-胆固醇基-3β-氧基琥珀酸酯碘化物、3β[N-(N',N'-二甲基氨基乙

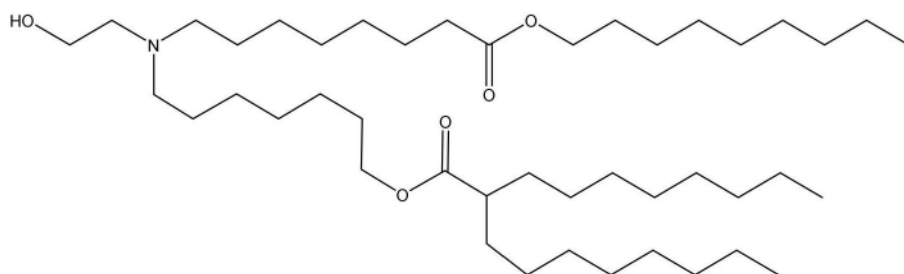
烷)氨基甲酰基]胆固醇以及3 β -[N-(聚乙烯亚胺)-氨基甲酰基]胆固醇、1,4-双[(3-棕榈酰基氨基)丙基]哌嗪、L-鸟氨酸基酸甘氨酸基-N-(1-十七烷基十八烷基)甘氨酸胺、N²,N⁵-双[(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基酸甘氨酸基-N-(1-十七烷基十八烷基)甘氨酸胺、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-烷基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(3-氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L-谷氨酸胺、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L- α -谷氨酸胺、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-油烯基氨基)2-羟丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L- α -天冬酰胺、N-[N²-[N²,N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、N²-[N²,N⁵-双(3-氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二醇基-L-谷氨酸胺、N²-[N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二油烯基-L- α -谷氨酸胺、4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-肉豆蔻基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二油烯基-L- α -天冬酰胺、N-[N²-N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-二油烯基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、1,4-双[(3-(3-氨丙基)-油烯基氨基)丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(3-氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二棕榈基-L-谷氨酸胺、N²-[N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N-二棕榈基-L- α -谷氨酸胺、N²-[N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二棕榈基-L- α -天冬酰胺、N-[N²-[N²,N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-二棕榈基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、N²-[N²,N⁵-双(3-氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二肉豆蔻基-L-谷氨酸胺、N²-[N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二肉豆蔻基-L- α -谷氨酸胺、N²-[N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二肉豆蔻基-L- α -天冬酰胺、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-棕榈基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、N-[N²-[N²,N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-二肉豆蔻基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、1,4-双[(3-(3-氨丙基)-肉豆蔻基氨基)丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(3-氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二月桂酰基-L-谷氨酸胺、N²-8N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二月桂酰基-L- α -谷氨酸胺、N²-[N²,N⁵-双(氨丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二月桂酰基-L- α -天冬酰胺、N-[N²-[N²,N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨丙基]-L-鸟氨酸基]-N-二月桂酰基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、3-[N',N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-双十八碳-9-烯基丙酰胺、3-[N',N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-二棕榈基丙酰胺、3-[N',N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-二肉豆蔻基丙酰胺、1,4-双[(3-(3-氨丙基)-棕榈基氨基)丙基]哌嗪、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-油烯基氨基)丙基]哌嗪、N,N-(2-羟基-3-氨丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二醇基氨基丙烷、N,N-(2-羟基-3-氨丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二棕榈基氨基丙烷、N,N-(2-羟基-3-氨丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二肉豆蔻基氨基丙烷、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-肉豆蔻基氨基)丙基]哌嗪、[(3-氨丙基)-双-(2-十四烷基氧基乙基)]甲基溴化铵、[(3-氨丙基)-双-(2-棕榈基氧基乙基)]甲基溴化铵、油酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、2-二癸酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、棕榈酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、1,2-二棕榈酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、肉豆蔻酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、1,2-二肉豆蔻酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、(3-氨基-丙基)->4-(3-氨基-丙氨基)-4-十四烷基氨基甲酰基-丁基氨基甲酸胆固醇酯、(3-氨基-丙

基)->4-(3-氨基-丙氨基-4-氨基甲酰基丁基氨基甲酸胆固醇酯、(3-氨基-丙基)->4-(3-氨基-丙氨基)-4-(2-二甲基氨基-乙基氨基甲酰基)-丁基氨基甲酸胆固醇酯、精胺-5-羧基甘氨酸(N'-硬脂基-N'-油烯基)酰胺四三氟乙酸盐、精胺-5-羧基甘氨酸(N'-硬脂基-N'-反油烯基)酰胺四三氟乙酸盐、胍丁胺基羧基胆固醇乙酸盐、精胺-5-羧基-β-丙氨酸胆固醇酯四三氟乙酸盐、2,6-二氨基己酰基β-丙氨酸胆固醇酯双三氟乙酸盐、2,4-二氨基丁酰基β-丙氨酸胆固醇酯双三氟乙酸盐、N,N-双(3-氨丙基)-3-氨基丙酰基β-丙氨酸胆固醇酯三三氟乙酸盐、[N,N-双(2-羟乙基)-2-氨乙基]氨基羧基胆固醇酯、硬脂基肉碱酯、棕榈基肉碱酯、肉豆蔻基肉碱酯、硬脂基硬脂酰基肉碱酯氯化物盐、L-硬脂基硬脂酰基肉碱酯、硬脂基油酰基肉碱酯氯化物、棕榈基棕榈酰基肉碱酯氯化物、肉豆蔻基肉豆蔻酰基肉碱酯氯化物、L-肉豆蔻基肉豆蔻酰基肉碱酯氯化物、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-棕榈基氨基)丙基]哌嗪、N-(3-氨丙基)-N,N'-双-(十二烷基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨丙基)-N,N'-双-(油烯基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨丙基)-N,N'-双-(棕榈基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨丙基)-N,N'-双-(肉豆蔻基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-十二烷基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-油烯基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-棕榈基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-肉豆蔻基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物,适用于所述组合物和方法中的磷脂可选自由以下组成的非限制性组:1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DLPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DUPC)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、1,2-双-0-十八烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(18:0二醚PC)、1-油酰基-2-胆固醇基半琥珀酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(0ChemsPC)、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(C16 Lyso PC)、1,2-二亚油烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(DPPG)、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、二硬脂酰基-磷脂酰基-乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺(DMPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱(SOPC)、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE),

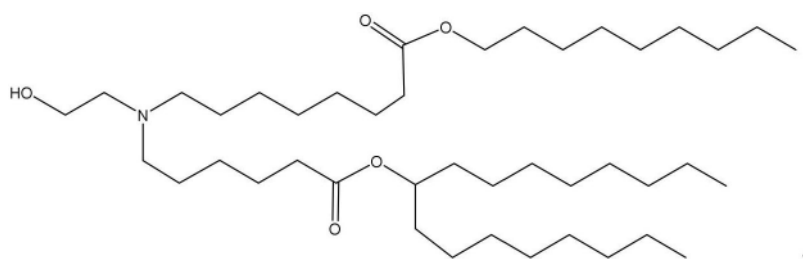
化合物1



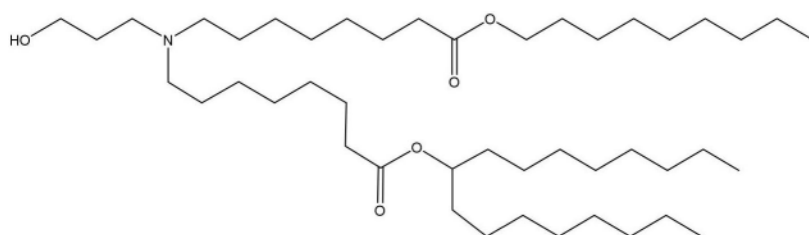
化合物2



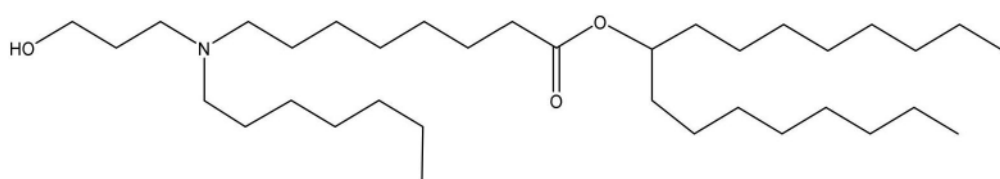
化合物3



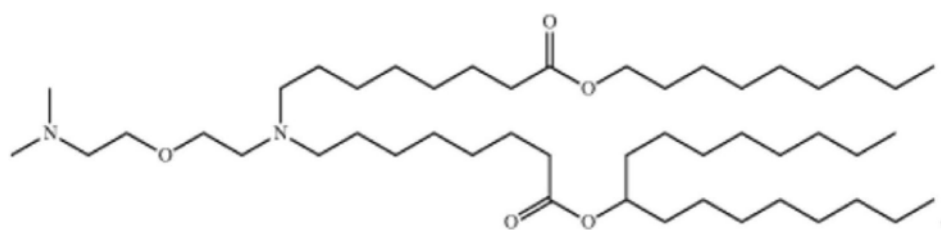
化合物4



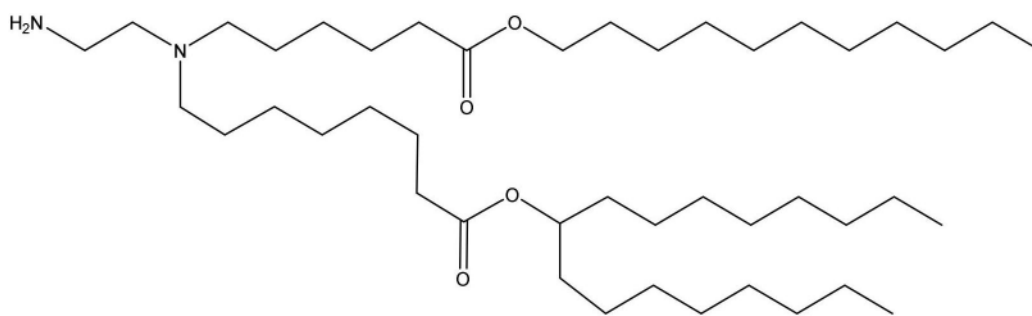
化合物5



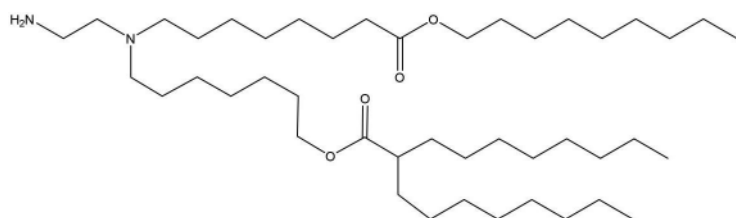
化合物6



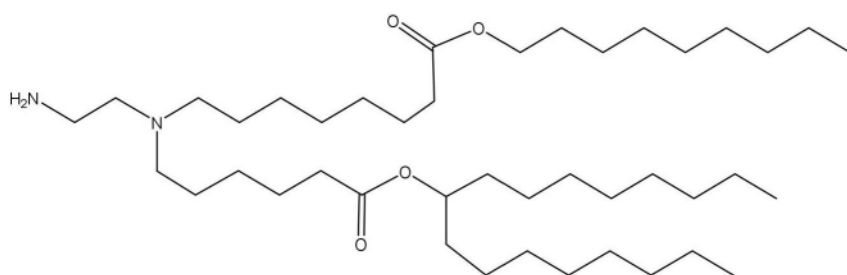
化合物7



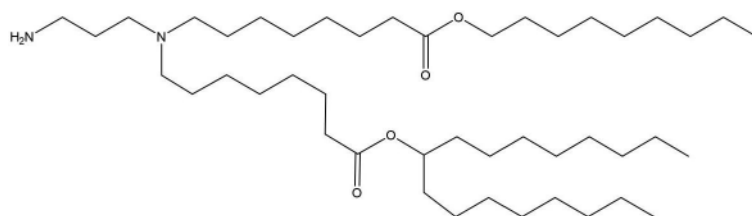
化合物8



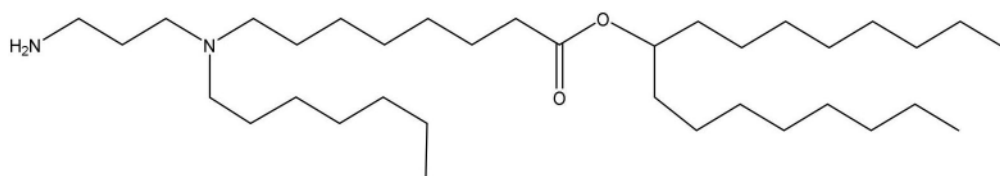
化合物9



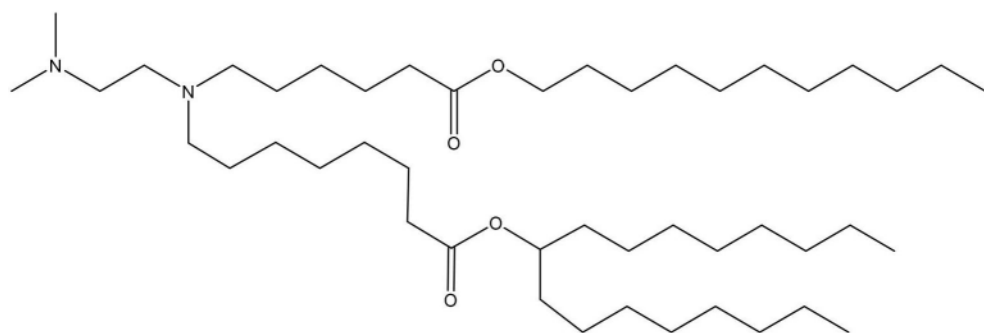
化合物10



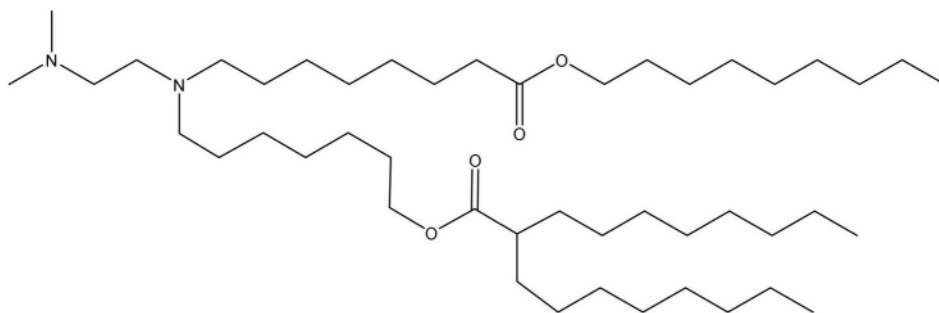
化合物11



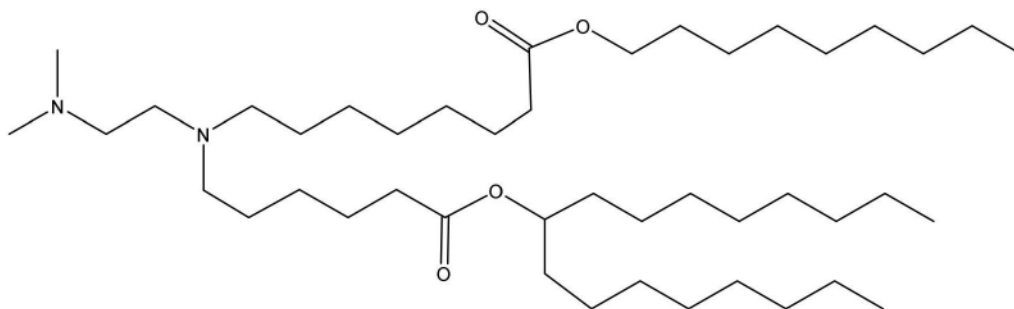
化合物12



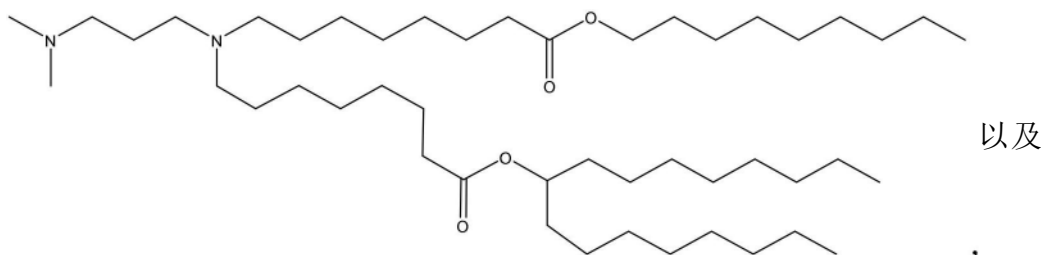
化合物13:



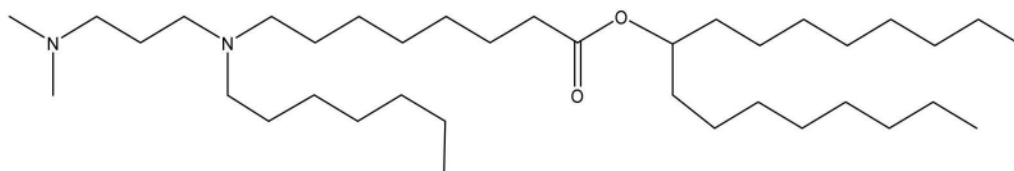
化合物14



化合物15



化合物16



35. 根据权利要求32所述的组合物,其中所述至少一种中性脂质选自:胆固醇、二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二油酰基磷脂酰胆碱(DOPC)和二植烷酰基磷脂酰乙醇胺(DDhPE)。

36. 根据权利要求28至35中任一项所述的组合物,其进一步包括药学上可接受的载体。

37. 一种试剂盒,其包括:

根据权利要求1至27中任一项所述的三核苷酸帽类似物;

核苷酸三磷酸分子;以及

RNA聚合酶。

38. 一种产生三核苷酸封端RNA的方法,所述方法包括:

使核酸底物与RNA聚合酶和根据权利要求1至27中任一项所述的三核苷酸帽类似物接触,

其中所述接触在存在核苷酸三磷酸的情况下进行,

并且其中所述接触在足以产生三核苷酸封端RNA的条件下进行并持续足以产生三核苷

酸封端RNA的时间。

39. 一种方法, 其包括使细胞与根据权利要求1至27中任一项所述的三核苷酸帽类似物接触。

40. 一种提高RNA的细胞内稳定性的方法, 所述方法包括:

将根据权利要求1至27中任一项所述的三核苷酸帽类似物掺入到所述RNA中。

41. 一种制备脂质纳米颗粒的方法, 所述方法包括:

将根据权利要求28所述的组合物与以下组合: 一种或多种阳离子脂质, 任选地一种或多种中性脂质, 以及任选地一种或多种PEG脂质, 以及任选地一种或多种细胞穿透肽或其任何组合。

42. 一种用于将RNA引入到细胞中的方法, 所述方法包括使所述细胞与根据权利要求28至36中任一项所述的组合物接触。

43. 一种用于在细胞中进行RNA翻译抑制的方法, 所述方法包括使所述细胞与根据权利要求28至36中任一项所述的组合物接触。

44. 一种根据权利要求27至36中任一项所述的组合物在制备疫苗中的用途。

45. 一种转录起始复合物, 其包括:

a. 核酸分子, 所述核酸分子包括启动子区, 所述启动子区包括转录起始位点, 所述转录起始位点包括模板链; 以及

b. 封端引物, 所述封端引物包括与所述转录起始位点杂交的两个或更多个碱基, 所述转录起始位点包括至少在位置-1和+1、+1和+2或+2和+3处的模板链, 并且

其中所述起始位点的非模板链的相邻位置处的至少一个核苷酸是转录起始阻断核苷酸。

46. 根据权利要求45所述的起始复合物, 其中一个或多个转录起始阻断核苷酸与所述起始位点的3'末端和5'末端均相邻。

47. 根据权利要求44或45所述的起始复合物, 其中所述一种或多种转录起始阻断核苷酸选自自由以下组成的组: (A) 胸苷; (B) 胞嘧啶; (C) 腺苷; 以及 (D) 经化学修饰的核苷酸。

48. 根据权利要求45至47中任一项所述的起始复合物, 其中所述模板链与互补的非模板链部分地杂交。

49. 根据权利要求45至48中任一项所述的起始复合物, 其中所述模板链含有在位置-1和/或+1处的经化学修饰的核苷酸。

50. 根据权利要求45至49中任一项所述的起始复合物, 其中所述模板链含有在位置-1和/或+1处的2'-脱氧胸苷残基和/或2'-脱氧胞苷残基。

51. 根据权利要求45至50中任一项所述的起始复合物, 其中所述转录起始位点的非模板链的位置-1、+1和+2包括选自自由以下组成的组的核苷酸序列:

a. AGT,

b. AAT,

c. AGC,

d. AAC,

e. AGA,

f. AAA,

g. GAT,
h. GAC,
i. GAA,
j. GGT,
k. GGC,
l. GGA,
m. ATT,
n. ATC, 以及
o. ATA。

52. 一种转录起始复合物, 其包括:

a. 核酸分子, 所述核酸分子包括启动子区, 所述启动子区包括转录起始位点, 所述转录起始位点包括模板链; 以及

b. 非天然存在的封端引物, 所述非天然存在的封端引物包括至少在核苷酸位置-1和+1或+2和+3处与DNA模板杂交的三个或更多个碱基。

53. 根据权利要求52所述的起始复合物, 其中所述非天然存在的封端引物包括根据权利要求1至27中任一项所述的帽类似物。

54. 一种核酸分子, 其包括启动子, 其中所述启动子包括以下非模板链核苷酸序列: $TATY_1Y_2Z$,

其中 Y_1 在-1位置处, Y_2 在+1位置处, 并且Z在位置+2处, 并且

其中Z是转录起始阻断核苷酸。

55. 根据权利要求54所述的核酸分子, 其中Z是腺苷、胞嘧啶或胸苷。

56. 根据权利要求54所述的核酸分子, 其中所述核苷酸序列选自由以下组成的组: (a) 5'-TATAGT-3'; (b) 5'-TATAGC-3'; 以及 (c) 5'-TATAAC-3'。

57. 一种用于产生mRNA分子的方法, 所述方法包括在允许通过转录反应产生所述mRNA分子的条件下, 使DNA模板与封端引物和RNA聚合酶接触, 其中所述DNA模板包括:

a. 核酸分子, 所述核酸分子包括启动子区, 所述启动子区包括转录起始位点, 所述转录起始位点包括模板链; 以及

b. 封端引物, 所述封端引物包括与所述转录起始位点杂交的两个或更多个碱基, 所述转录起始位点包括至少在位置-1和+1、+1和+2或+2和+3处的模板链, 并且

其中所述起始位点的所述模板链的5'相邻位置处的至少核苷酸是转录起始阻断核苷酸。

58. 根据权利要求57所述的方法, 其中所述RNA聚合酶是噬菌体RNA聚合酶。

59. 根据权利要求57至58中任一项所述的方法, 其中所述噬菌体RNA聚合酶是T7噬菌体、T3噬菌体、SP6噬菌体或K11噬菌体RNA聚合酶或其变体。

60. 根据权利要求57至59中任一项所述的方法, 其中所述mRNA分子包括编码蛋白质的核苷酸序列。

61. 根据权利要求57至60中任一项所述的方法, 其中所述转录反应发生在体外。

62. 根据权利要求57至61中任一项所述的方法, 其进一步包括翻译所述mRNA分子以产生蛋白质。

63. 根据权利要求57至62中任一项所述的方法, 其中所述mRNA分子的所述翻译发生在体外或体内。

64. 根据权利要求57至62中任一项所述的方法, 其中所述mRNA分子的所述翻译, 其中所述mRNA分子的所述翻译在体外发生在偶联的转录/翻译系统中。

65. 一种RNA分子, 其能够通过根据权利要求57至64中任一项所述的方法获得。

66. 根据权利要求57至64中任一项所述的方法, 其中所产生的至少70%的所述mRNA分子被封端。

67. 根据权利要求57至64和66中任一项所述的方法, 其中所产生的封端mRNA分子的产率大于3mg/ml的反应混合物。

68. 根据权利要求37所述的试剂盒, 其进一步包括以下中的一种或多种: RNA酶抑制剂、无机焦磷酸酶、Mg²⁺、拥挤剂、缓冲液或其任何组合。

三核苷酸帽类似物、其制备和用途

技术领域

[0001] 本说明书总体上涉及三核苷酸RNA帽类似物、其使用方法和包括所述三核苷酸RNA帽类似物的试剂盒。具体地,本文所提供的三核苷酸帽类似物允许在体外容易地检测和/或分离封端RNA转录物并在体内翻译封端mRNA。

[0002] 序列表

[0003] 本申请含有已经以ASCII格式电子提交的序列表,并且特此通过引用整体并入。创建于2021年6月24日的所述ASCII副本命名为LT01530PCT_SL.txt并且大小为195,611字节。

背景技术

[0004] 真核mRNA在其5'末端具有“帽”结构,众所周知,所述帽结构在翻译中发挥重要作用。天然存在的帽结构由通过三磷酸桥与第一转录核苷酸的5'端连接的7-甲基鸟苷组成,从而产生 $m^7G(5')ppp(5')N$,其中N是任何核苷酸。mRNA帽在基因表达中发挥重要作用。其保护mRNA不被核酸外切酶降解,使RNA能够从细胞核转运到细胞质,并参与翻译起始复合物的组装。呈 $m^7G(5')PPP(5')G$ (mCAP)形式的二核苷酸已在体外用作T7或SP6 RNA聚合酶转录的引物,以获得在其5'末端具有帽结构的RNA。在体内,酶促地添加帽。然而,在过去20年左右的时间里,许多研究要求在补充有体外合成mRNA的体外翻译提取物中合成蛋白质。用于体外合成封端mRNA的流行方法采用mCAP作为转录地起始子。使用假对称二核苷酸mCAP的缺点一直是G或 $m^7G(m^7Guo)$ 部分的3'-OH倾向于作为转录延伸的起始亲核体,从而导致约50%的可翻译的封端RNA。通过提供经修饰的帽类似物解决了此缺点,所述经修饰的帽类似物的帽的 m^7G 部分的3'-OH基团被阻断,以防止从所述位置转录(例如,ARCA)。

[0005] 虽然帽也可以通过细胞中的酶鸟酰基转移酶添加到RNA分子中,但帽最初是在体外转录期间添加到RNA中的,其中帽被用作RNA聚合酶的引物。5'末端核苷通常是鸟嘌呤,并且与所有其它核苷酸(即5'Gppp5'GpNpNp)的朝向相反。并且在大多数情况下,帽含有两个通过5'-5'三磷酸键连接的核苷酸。

[0006] RNA的转录通常开始于核苷三磷酸(通常是嘌呤,A或G)。当转录发生在体外时,其通常包含T7、T3或SP6等噬菌体RNA聚合酶、含有噬菌体聚合酶启动子的DNA模板、核苷酸(ATP、GTP、CTP和UTP)和含有镁盐的缓冲液。5'帽结构通过帮助结合真核核糖体并确保识别正确的AUG起始密码子来增强mRNA的翻译。此功能可能随翻译系统和正合成的特定mRNA而变化。

[0007] 在翻译期间,帽被翻译起始因子eIF4E结合,并且帽结合复合物(CBC)会募集另外的起始因子。脱帽由与eIF4E竞争以与帽结合的蛋白质dcp1和dcp2催化。翻译导致由mRNA编码的氨基酸结合在一起以形成肽,并发生为三个过程:起始、延伸和终止。真核生物中的起始涉及核糖体的附着,所述核糖体扫描mRNA以寻找第一个甲硫氨酸密码子。延伸随着氨基酸的连续添加进行,直到达到终止密码子,从而终止翻译。

[0008] 可以将编码特定基因的封端RNA转染到真核细胞中或显微注射到细胞或胚胎中,以研究所翻译产物在细胞或胚胎中的作用。如果使用未封端RNA,那么这些实验中的RNA会

[0019] 其中

[0020] B_3 选自-OH、卤素、染料、 $-OR^1$ ，

[0021] 其中 R^1 选自炔丙基、叔丁基二甲基甲硅烷基和具有4'C的亚甲基桥；

[0022] B_4 选自-OH、染料和 $-OR^2$ ，其中 R^2 选自炔丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基；

[0023] 或者 R^1 与 R^2 连接，使得 B_3 和 B_4 形成-2',3'-O-异亚丙基；

[0024] 条件是 B_3 和 B_4 两者不能都是-OH；

[0025] X选自-H和-CH₃；

[0026] B_1 和 B_2 各自独立地选自腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶；

[0027] R选自H、接头结合的细胞穿透肽、与染料共价连接的接头结合的细胞穿透肽和接头结合的染料。

[0028] 在第二方面，本公开涉及一种组合物，其包括式(I)或本文所描述的其任何实施例的三核苷酸帽类似物。

[0029] 在第三方面，本公开涉及一种组合物，其包括RNA，所述RNA具有式(I)或本文所描述的其任何实施例的三核苷酸帽类似物。

[0030] 在第四方面，本公开涉及一种试剂盒，其包括式(I)或本文所描述的其任何实施例的三核苷酸帽类似物；核苷酸三磷酸分子以及RNA聚合酶。

[0031] 在第五方面，本公开涉及一种产生三核苷酸封端RNA的方法，所述方法包括在存在核苷酸三磷酸的情况下，在足以产生三核苷酸封端RNA的条件并持续足以产生三核苷酸封端RNA的时间下，使核酸底物与RNA聚合酶和式(I)或本文所描述的其任何实施例的三核苷酸帽类似物接触。

[0032] 在第六方面，本公开涉及一种方法，所述方法包括使细胞与式(I)或本文所描述的其任何实施例的三核苷酸帽类似物接触。

[0033] 在第七方面，本公开涉及一种增加RNA的细胞内稳定性的方法，所述方法包括将根据式(I)或本文所描述的其任何实施例的三核苷酸帽类似物掺入到RNA中。

[0034] 在第八方面，本公开涉及一种用于将RNA引入到细胞中的方法，所述方法包括使所述细胞与根据本公开的组合物接触，所述组合物包括根据式(I)或本文所描述的其任何实施例的三核苷酸帽类似物。在一些实例中，细胞是树突细胞、肿瘤细胞、干细胞(iPSC、HSC、成体干细胞)等。

[0035] 在第九方面，本公开涉及一种用于在细胞中抑制RNA翻译的方法，所述方法包括使所述细胞与根据本公开的组合物接触，所述组合物包括根据式(I)或本文所描述的其任何实施例的三核苷酸帽类似物。

[0036] 本文还提供了转录起始复合物，其包括：(a) 核酸分子，所述核酸分子包括启动子区，所述启动子区包括转录起始位点，所述转录起始位点包括模板链；以及(b) 封端引物，所述封端引物包括与所述转录起始位点杂交的两个或更多个(例如，约二个至约十二个、约二个至约十个、约二个至约九个、约二个至约八个、约二个至约六个、约三个至约八个等)碱基，所述转录起始位点包括至少在位置-1和+1、+1和+2或+2和+3处的模板链。在一些情况下，在所述起始位点的非模板链的一个或两个相邻位置(5'和/或3')处的至少一个(例如，一个、两个、三个、四个等)核苷酸是转录起始阻断核苷酸。在一些情况下，所述一种或多种转录起始阻断核苷酸选自由以下组成的组：(A) 胸苷；(B) 胞嘧啶；(C) 腺苷；以及和(D) 经化

学修饰的核苷酸。进一步地,所述起始复合物可以包括与互补的非模板链杂交(例如,部分地杂交)的模板链。另外地,所述模板链和/或非模板链可以含有在位置1和/或+1处的经化学修饰的核苷酸(例如,脱氧胸苷残基和/或2'-脱氧胞苷等)。

[0037] 本文所示的启动子和转录起始复合物的转录起始位点的非模板链的位置-1、+1和+2可以包括选自以下组成的组的核苷酸序列:A G T、A A T、A G C、A A C、A G A、A A A、G A T、G A C、G A A、G G T、G G C、G G A、A T T、A T C和A T A。

[0038] 本文还提供了转录起始复合物,其包括:(a) 核酸分子,所述核酸分子包括启动子区,所述启动子区包括转录起始位点,所述转录起始位点包括模板链;以及(b) 非天然存在的封端引物,所述非天然存在的封端引物包括至少在核苷酸位置-1和+1、+1和+2或+2和+3处与DNA模板杂交的三个或更多个碱基。进一步地,本文所示的起始复合物可以包括非天然存在的封端引物,所述非天然存在的封端引物是本文所示的封端引物。

[0039] 本文进一步提供了核酸分子,其包括启动子,其中所述启动子包括以下非模板链核苷酸序列:TATY₁Y₂Z,其中Y₁在-1位置处,Y₂在+1位置处,并且Z在位置+2处,并且其中Z是转录起始阻断核苷酸。进一步地,Z可以是腺苷、胞嘧啶、胸苷或经化学修饰的核苷酸。此类核酸分子可以包括选自以下组成的组的核苷酸序列:(a) 5'-T A T A G T-3';(b) 5'-T A T A G C-3';以及(c) 5'-T A T A A C-3'

[0040] 同样地,本文提供了用于产生mRNA分子的方法。此类方法可以包括在允许通过转录反应产生所述mRNA分子的条件下,使DNA模板与封端引物和RNA聚合酶接触,其中所述DNA模板包括:(a) 核酸分子,所述核酸分子包括启动子区,所述启动子区包括转录起始位点,所述转录起始位点包括模板链;以及(b) 封端引物,所述封端引物包括与所述转录起始位点杂交的两个或更多个碱基,所述转录起始位点包括至少在位置-1和+1、+1和+2或+2和+3处的模板链,并且其中所述起始位点的所述模板链的5'相邻位置处的至少核苷酸是转录起始阻断核苷酸。进一步地,此类方法中使用的RNA聚合酶包含噬菌体、细菌和真核(例如,哺乳动物)RNA聚合酶。在一些情况下,噬菌体RNA聚合酶如T7噬菌体、T3噬菌体、SP6噬菌体或K11噬菌体RNA聚合酶或其变体可用于本文所示的方法中。

[0041] 进一步地,通过本文所示的方法产生的mRNA分子可以包括编码一种或多种蛋白质的核苷酸序列。同样地,通过本文所示的方法产生的mRNA分子可以通过体外或体内转录反应产生。另外地,可以翻译通过本文所示的方法产生的mRNA分子以产生蛋白质,例如通过偶联的转录/翻译系统。

[0042] 在许多情况下,由本文所示的方法产生的mRNA分子的至少70%(例如,约70%至约100%、约75%至约100%、约80%至约100%、约85%至约100%、约90%至约100%、约70%至约98%、约80%至约98%等)将被封端。

[0043] 在许多情况下,通过本文所示的方法产生的mRNA分子(例如,封端mRNA分子)的产率将大于3mg/ml的反应混合物。

附图说明

[0044] 本领域技术人员将理解,以下描述的附图仅用于说明目的。附图不旨在以任何方式限制本教导的范围。

[0045] 图1展示了本文所描述的三核苷酸帽类似物的示例性合成方案。在此图示中,合成

方案将7甲基(LNA)鸟苷5'-二磷酸的咪唑盐(Imm7(LNA)GDP)(A)与(B)组合以形成本公开的示例性三核苷酸类似物(C)。

[0046] 图2展示了制备7甲基(LNA)鸟苷5'-二磷酸的咪唑盐(Imm7(LNA)GDP)的示例性合成方案,其是图1的部分(A)。

[0047] 图3展示了制备二核苷酸5'磷酸二核苷酸如pApG的示例性合成方案,其是图1的部分(B)。

[0048] 图4展示了本文所描述的含3'-O-炔丙基的三核苷酸帽类似物的示例性合成方案。 $B_1 = G, A, U \text{ 或 } C; B_2 = G, A, U \text{ 或 } C$ 。

[0049] 图5展示了制备7甲基3'-O-炔丙基鸟苷5'-二磷酸的咪唑盐(Imm^{T, 3'-O-炔丙基}GDP)的示例性合成方案,其用于图4的含3'-O-炔丙基的三核苷酸帽类似物的合成方案中。

[0050] 图6展示了制备用于合成三核苷酸帽的二核苷酸的示例性合成方案,包含图4的含3'-O-炔丙基的三核苷酸帽类似物。 $B_1 = G, A, U \text{ 或 } C; B_2 = G, A, U \text{ 或 } C$ 。

[0051] 图7展示了制备含如本文所描述的染料的三核苷酸帽类似物的示例性合成方案。 $B_1 = G, A, U \text{ 或 } C; B_2 = G, A, U \text{ 或 } C$ 。

[0052] 图8A和8B展示了制备含Imm⁷GDP的染料的示例性合成方案,其用于图7的含染料的三核苷酸帽类似物的合成方案中。

[0053] 图9展示了制备如本文所描述的含亚异丙基部分的三核苷酸帽类似物的示例性合成方案。 $B_1 = G, A, U \text{ 或 } C; B_2 = G, A, U \text{ 或 } C$ 。

[0054] 图10展示了如本文所公开的含有接头结合的细胞穿透肽的三核苷酸帽类似物的示例性化学结构。

[0055] 图11是示出在不同mRNA CAP类似物的存在的情况下进行的IVT反应的mRNA产率的条形图,如在实例3中所指示和所描述的。

[0056] 图12是示出用ARCA、GAG帽或经LNA修饰的GAG帽封端的mRNA的mRNA封端效率的条形图。

[0057] 图13是示出当用具有如实例4中所描述的无帽、ARCA、GAG帽或经LNA修饰的GAG帽的粗或经HPLC纯化的mRNA转染时,为GFP阳性的细胞%的条形图。

[0058] 图14是示出用“粗”或“经HPLC纯化的”mRNA制剂转染的细胞的中值荧光强度(MFI)的条形图,所述制剂用如实例4中所描述的无帽、ARCA帽类似物、GAG帽类似物或经LNA修饰的GAG帽类似物封端。

[0059] 图15示出了包含Cap 0 ($R_1 = H$) 和Cap 1 ($R_1 = CH_3$) 类型的示例性7-甲基鸟苷三核苷酸帽结构的一般结构。 B_1 和 B_2 是可以相同或不同的碱基。 R_2 代表由中间磷酸盐连接的一个或多个另外的核苷。

[0060] 图16是四种示例性野生型噬菌体启动子的非模板链的示意图。这些启动子的长度各自为23个碱基对。进一步地,每个启动子含有富含AT的区、聚合酶特异性环区、解旋区(位置-4至-1)和起始区(位置+1至+6)。SP6启动子的位置+5处的“N”可以是任何核苷酸,但在许多情况下,将是G或A。从上到下为SEQ ID NO:591、SEQ ID NO:592、SEQ ID NO:593和SEQ ID NO:594。“UTR”是指形成转录mRNA分子的非翻译区的DNA。

[0061] 图17是与转录起始位点结合的三个不同mRNA帽的示意图。CAP1是其中两个碱基都是鸟嘌呤的二核苷酸帽。CAP2是其中两个碱基是鸟嘌呤,中间是腺嘌呤碱基的三核苷酸帽。

CAP3是其中所有三个碱基都是鸟嘌呤的三核苷酸帽。所有三个实例中的第一个碱基(鸟嘌呤)都示出在另一个碱基上方,因为此第一个碱基不直接与启动子相互作用。此图的下半部分示出了启动子部分的非模板链(5'至3')和模板链(3'至5'),其中解旋区的四个碱基(下划线所示)与转录起始位点相遇。CAP1、CAP2和CAP3位于图中其与起始区的模板链互补的位置(每个帽分别为+1、-1至+1,以及+1至+2)。图17公开了SEQ ID NO:595。

[0062] 图18是具有以下差异的类似于图17的示意图。CAP4是其中第一个碱基是鸟嘌呤并且第二个碱基是腺嘌呤二核苷酸帽。CAP5是其中第一个碱基是鸟嘌呤并且接下来两个碱基是腺嘌呤的三核苷酸帽。CAP2与图17中所示的相同。进一步地,非-模板链的位置+1处的碱基是腺嘌呤而不是鸟嘌呤。图18公开了SEQ ID NO:596。

[0063] 图19也是类似于图17的示意图。此图示出了与起始区的-1至+1位置相关的CAP2(见虚线框)。进一步地,非-模板链的位置+2处的碱基对是胸腺嘧啶(见向下箭头),其中模板链中存在腺嘌呤(未示出)。图19公开了SEQ ID NO:597。

[0064] 图20示出了HB-WT、HB-MOD2、HB-MOD4和HB-MOD29的不同启动子序列和位置1起始产生的RNA产率。AGG帽和+1起始位点用于WT-MOD。HB-WT的模板设计用于+1起始,但反应混合物中没有帽。用于生成此图的数据列于表5。HB-GFP是指由人β珠蛋白5'和3'非翻译区(UTR)组成的模板。

[0065] 序列的描述

[0066] 表1提供了本文所使用的序列列表。

[0067] 表1

SEQ ID No.	序列	描述
1	GYSTPPKKRKVEDP	细胞穿透肽
2	GYSTPPKTRRRP	细胞穿透肽
3	GYSTPGRKKR	细胞穿透肽
4	GYSTPRNRNRRRW	细胞穿透肽
5	PDEVKRKKKPPTSYG	细胞穿透肽
6	PRRRTKPPTSYG	细胞穿透肽
7	RKKRGPTSYG	细胞穿透肽
8	WRRRRNRRPTSYG	细胞穿透肽

[0068]

[0069]

SEQ ID No.	序列	描述
9	GYGPPKKRKVEAPYKA	细胞穿透肽
10	PAAKRVKLD	细胞穿透肽
11	RQRRNELKRSP	细胞穿透肽
12	KRPAATKKAGQAKKKK	细胞穿透肽
13	VRKKRKTEESPLKDKDAKSKQE	细胞穿透肽
14	RLRRDAGGRGGVYEHLGGAPRRRK	细胞穿透肽
15	KRKGDEVGDGVDECAKSKK	细胞穿透肽
16	NQSSNFGPMKGGNFGGRSSGPYGGGGQYFAKPRNQGGY	细胞穿透肽
17	GGKRTADGSEFESPKKARKVEAYPKAW	细胞穿透肽
18	GGKRTADGSEFESPKKKRAVEAYPKAW	细胞穿透肽
19	GGKRTADGSEFESPKKKAKVEAYPKAW	细胞穿透肽
20	GGKRTADGSEFESPKKKRKVEAPYKAWK	细胞穿透肽
21	GGKRTADGSEFESPKKKRKVEYKAWK	细胞穿透肽
22	GYGPAAKRVKLDEAYPKAWK	细胞穿透肽
23	GGKRTADGSEFEPAAKRVKLDEAYPKAWK	细胞穿透肽
24	GTGPKKKRKVGGGGYGPKKKRLVG	细胞穿透肽
25	KRPAATKKAGQAKKKKLEAYPKAWK	细胞穿透肽
26	ATKGTKRSYEQMETGE	细胞穿透肽
27	GKWERKPIRCAS	细胞穿透肽
28	GYGKRTADSQHSTPPKKRKVEAPYKAWK	细胞穿透肽
29	KRTADSQHSTPPKKRKVEAPYKAWK	细胞穿透肽
30	GYGPPKKRKVEAPYKAWKWAKYPAMRRAHRRRRASHR RRTTTGT	细胞穿透肽
31	GYGPPKKRKVEAPYKAWKRGARRYSKMRRRRRVARRH RRRP	细胞穿透肽
32	FWGYGYGPPKKRKVEAPYKAWK	细胞穿透肽
33	GKPSSDDEATADSQHSTPPKKKERKVED	细胞穿透肽 细胞穿透肽
34	GKPTADDQHSTPPKKRKVED	细胞穿透肽
35	GGKRTADGSEFESPKKARKVEAYPKAK	细胞穿透肽
36	EKIRLRPGRKKRYRLKHL	细胞穿透肽
37	PEGTRQARRNRRRRWRKR	细胞穿透肽
38	PEGTRQPRNRRRRWRKR	细胞穿透肽
39	GVKRSYGAARGDDRRPNVVAPYKAW	细胞穿透肽
40	KSVPNRTRTYIKLRFRFKGAPYKAW	细胞穿透肽
41	EMRRRREEGLQLRKQKREEQLFKRRN	细胞穿透肽
42	FEAALAEALAEALA	细胞穿透肽
43	Ac-LARLLPRLARL-NHCH ₃	细胞穿透肽
44	GLLEELLEELLEELWEELLEG	细胞穿透肽
45	GWEGLIEGIEGGWEGLIEG	细胞穿透肽
46	GLFEALAEFIEGGWEGLIEG	细胞穿透肽
47	GLFEALLELLESLWELLLEA	细胞穿透肽
48	GGYCLEKWMIVASELKCFGNTA	细胞穿透肽

[0070]

SEQ ID No.	序列	描述
49	GGYCLTRWMLIEAEKCFGNTAV	细胞穿透肽
50	WEAALAEALAEALAEHLAEALAEALEALAA	细胞穿透肽
51	GLFGAIAAGFIENGWEGMIDGWYG	细胞穿透肽
52	GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ	细胞穿透肽
53	GRKKRRQRRRPPQ	细胞穿透肽
54	RQIKIWFQNRRMKWKK	细胞穿透肽
55	GWTLSAGYLLGKINLKALAALAKKIL	细胞穿透肽
56	WEAKLAKALAKALAKHLAKALAKALKACEA	细胞穿透肽
57	GLFKALLKLLKSLWKLKLLKA	细胞穿透肽
58	GLFRALLRLLRSLWRLKLLRA	细胞穿透肽
59	GLFEALLELLESLEYELLLEA	细胞穿透肽
60	GLFEALEELWEA	细胞穿透肽
61	GLFLLEEWLE	细胞穿透肽
62	GLFLLEEWLEK	细胞穿透肽
63	GLFEALLELLESLEWELLLEAK	细胞穿透肽
64	Suc-GLFKLLEEWLE	细胞穿透肽
65	Suc-GLFKLLEEWLEK	细胞穿透肽
66	GLFEAIAEFIEGGWEGLIEG	细胞穿透肽
67	GLFKAIKFIKGGWKGLIKG	细胞穿透肽
68	IRFKKTKLIASIAMALC	细胞穿透肽
69	ALAGTHIAGASLTFQVLDKVIEELGKVSRLK	细胞穿透肽
70	GLFEAIEGFIENGWEGMIDGWYG	细胞穿透肽
71	GYICRRARGDNPDDRCT	细胞穿透肽
72	GLFEAIAEFIEGGWEGLIEGCA	细胞穿透肽
73	GLFHAIHFIHGGWHGLIHGWYWG	细胞穿透肽
74	RRRQRRKKRGDIMGEGWNEIFGAIAGFLG	细胞穿透肽
75	GLFEAIAEFIEGGWEGLIEGGG	细胞穿透肽
76	ALAGTHIAGASLTFQVLDKVIEELGKVSRLK	细胞穿透肽
77	IRFKKTKLIASIAMA	细胞穿透肽
78	GLWHLLLHLWRLLRLLR	细胞穿透肽
79	KKIMLLMTLLVSLPLAQEQ	细胞穿透肽
80	GLFEALLELLESLEWELLLEAWYG	细胞穿透肽
81	RLLRLLRLWRLLRLLR	细胞穿透肽
82	LLELELELELELELELELELELELE	细胞穿透肽
83	GLFEALLELLESLEWELLLEARRRRRRR	细胞穿透肽
84	GLFEALLELLESLEWELLLEARRRRRR	细胞穿透肽
85	GLFEALLELLESLEWELLLEAKKKKKKK	细胞穿透肽
86	GLFEALLELLESLEWELLLEAKKKKKK	细胞穿透肽
87	GLFEALLELLESLEWELLLEAKK	细胞穿透肽
88	GLFEALLELLESLEWELLLEAKKKK	细胞穿透肽
89	GLFEALLELLESLEWELLLEAEE	细胞穿透肽
90	GLFEALLELLESLEWELLLEAEEEE	细胞穿透肽

[0071]

SEQ ID No.	序列	描述
91	GLFEALLELLESLWELLLEAEEEEEE	细胞穿透肽
92	GLFEALLELLESLWELL	细胞穿透肽
93	PLSSIFSRIGDPRGARRYAKMKRRRRRVARRHRRRP	细胞穿透肽
94	GPFHYFQFLFPPV	细胞穿透肽
95	GSSSWWQRWWPPW	细胞穿透肽
96	RRRQRRKKR	细胞穿透肽
97	KKKK	细胞穿透肽
98	KKKKKK	细胞穿透肽
99	KKKKKKKK	细胞穿透肽
100	KKKKKKKKKK	细胞穿透肽
101	KKKKKKKKKKKK	细胞穿透肽
102	KKKKKKKKKKKKKKKK	细胞穿透肽
103	KKKKKKKKKKKKKKKKKKKK	细胞穿透肽
104	KKKKKKKKKKKKKKKKKKKKKKKKKK	细胞穿透肽
105	RRRR	细胞穿透肽
106	RRRRRR	细胞穿透肽
107	RRRRRRRR	细胞穿透肽
108	RRRRRRRRRR	细胞穿透肽
109	RRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
110	RRRRRRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
111	RRRRRRRRRRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
112	RRRRRRRRRRRRRRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
113	YKA	细胞穿透肽
114	KKKKKKKKWKGGGGACYGLPHLFCG	细胞穿透肽
115	YKAKKKKKKKWK	细胞穿透肽
116	KTPKKAKPKTPKKAKKP	细胞穿透肽
117	KKAKKPAATRKSSENPKPKTVKPKKVAK	细胞穿透肽
118	RGARRYSKMKRRRRRVARRHRRRP	细胞穿透肽
119	TRQARRNRRRRWRERQRGSGSG	细胞穿透肽
120	KRPRGRPKGSKKNWRRRKRRASRRSPRRR	细胞穿透肽
121	KRGRGRPRKQPPKEPSEVPTPKRPRGRPKGSKNK	细胞穿透肽
122	KEYEKDIAAYRAKGKPAAKKGVVKAESKKKK	细胞穿透肽
123	YKAKKKKKKKKKWK	细胞穿透肽
124	KKKKKKKGGC	细胞穿透肽
125	YRARRRRRRRRWR	细胞穿透肽
126	YRARRRRRRRRRRWR	细胞穿透肽
127	KGDPKKPRGKMSSYAFFVQTCREEHKKKHPDASVNFSEFSK K	细胞穿透肽
128	KKQLKKQLKKQLKQWK	细胞穿透肽
129	KKSPKKSPKKSPKKSK	细胞穿透肽
130	KLSKLEKKSKLEK	细胞穿透肽
131	KLSKLEKKLSKLEKKSKLEK	细胞穿透肽

[0072]

SEQ ID No.	序列	描述
132	KSLKKSLKKSLKKSK	细胞穿透肽
133	KIRRRGKNKVAARTCRQRRTDR	细胞穿透肽
134	KIRRRGKNKVAAQNCRKRKLET	细胞穿透肽
135	KRRIRREKNKMAAAKCRNRRRELT	细胞穿透肽
136	KDRSNLLERHTR	细胞穿透肽
137	KRPAATKKAGQAKKKL	细胞穿透肽
138	RRRRRREEEE	细胞穿透肽
139	RRRRRREEEEE	细胞穿透肽
140	RRRRRREEEEE	细胞穿透肽
141	RRRRRRREEEE	细胞穿透肽
142	RRRRRRREEEEE	细胞穿透肽
143	RRRRRRREEEEE	细胞穿透肽
144	RRRRRRRRRRREEEE	细胞穿透肽
145	RRRRRRRRRRREEEEE	细胞穿透肽
146	RRRRRRRRRRREEEEE	细胞穿透肽
147	KLSKLEKK	细胞穿透肽
148	SKLEK	细胞穿透肽
149	KLSKLEKKLSKLEKK	细胞穿透肽
150	PKKKRKVGGRGDSP	细胞穿透肽
151	LPHKSMPCG	细胞穿透肽
152	GACLQHKSMPCG	细胞穿透肽
153	YGLPHLFCG	细胞穿透肽
154	SERSMNFCG	细胞穿透肽
155	DHYSLYEDLERGTDK	细胞穿透肽
156	ISLPRTSGAQRASTTR	细胞穿透肽
157	EKLQTKYGLPHKVEFCG	细胞穿透肽
158	TRISESQAKPGD	细胞穿透肽
159	LVFFDY	细胞穿透肽
160	WGGNGPTTFDCSGYTKYVFAK	细胞穿透肽
161	INIGTTGWGDHYSLY	细胞穿透肽
162	YDNIHG	细胞穿透肽
163	AGWGKFLVGFRV	细胞穿透肽
164	SIGYPLP	细胞穿透肽
165	TTHWGFTL	细胞穿透肽
166	HLQIQYPYQISG	细胞穿透肽
167	KLNIVSVNG	细胞穿透肽
168	RGH	细胞穿透肽
169	DNRIRLQAKAA	细胞穿透肽
170	KIKMVISWKG	细胞穿透肽
171	LPWYSYLYAVSA	细胞穿透肽
172	WNLPWYYSVSPT	细胞穿透肽
173	WNL	细胞穿透肽

[0073]

SEQ ID No.	序列	描述
174	PWYYSVSPT	细胞穿透肽
175	SSWESYKSGGGTRL	细胞穿透肽
176	RDWSSQHPGRCNGETHLK	细胞穿透肽
177	SLPTLTL	细胞穿透肽
178	VICTGGDYSFALPVGQWPVMT	细胞穿透肽
179	DKPSYQFGGHNSVDFEEDTLPKV	细胞穿透肽
180	RARRRKASATQLYQTCKASGTCPPD	细胞穿透肽
181	SGDYSFALPVGQWPWMTG	细胞穿透肽
182	CTGGDYSFALPVGQWPW	细胞穿透肽
183	FYYDYDFFFDYWGQG	细胞穿透肽
184	HLRRLRRLLREAEG	细胞穿透肽
185	DYYCAAWDDSLNGYSVF	细胞穿透肽
186	YYCLQSMEDPYTFGG	细胞穿透肽
187	YYCARSDGNYGYYYALDYDY	细胞穿透肽
188	AARSPSYRYDY	细胞穿透肽
189	GPYYAMDYD	细胞穿透肽
190	YYCQQRSSYPYTEGGAYPKAWK	细胞穿透肽
191	YYCQRYDSDFSFGQGTKL	细胞穿透肽
192	YYCARSGYYAMDYWGQGT	细胞穿透肽
193	RVRRGACRGDCLG	细胞穿透肽
194	RVRRGACRYDCLG	细胞穿透肽
195	YYCAKGTHWGFWSGYFDYWGQGT	细胞穿透肽
196	GRENYHGCTTHWGFTLC	细胞穿透肽
197	VQATQSNQHTPRGGGSK	细胞穿透肽
198	DPRAPGS	细胞穿透肽
199	YYCQQRSSYPYTFGG	细胞穿透肽
200	AARSPSYRYDYGPYYAMDYD	细胞穿透肽
201	GPKLTGILISILSLFVES	细胞穿透肽
202	KYILRWRPKNS	细胞穿透肽
203	IKVAV	细胞穿透肽
204	WTPPRAQITGYRLTVGLTRR	细胞穿透肽
205	AASIKVAVSADR	细胞穿透肽
206	KLDAPT	细胞穿透肽
207	NRWHSIYITRFG	细胞穿透肽
208	PHSRN	细胞穿透肽
209	SSFHFDGSGYAM	细胞穿透肽
210	RGDS	细胞穿透肽
211	IAFQRN	细胞穿透肽
212	GRGDSP	细胞穿透肽
213	TWYKIAFQRRK	细胞穿透肽
214	EDGIHEL	细胞穿透肽
215	SLVRNRRVITIQ	细胞穿透肽

[0074]

SEQ ID No.	序列	描述
216	YRVRVTPKEKTGPMKE	细胞穿透肽
217	LQVQLSR	细胞穿透肽
218	SPPRRARVT	细胞穿透肽
219	RKRLQVQLSIRT	细胞穿透肽
220	ATETTITIS	细胞穿透肽
221	NAPFPKLSWTIQ	细胞穿透肽
222	VSPRRARVTDATETTITISWRTKTETITGG	细胞穿透肽
223	WTIQTTVDRGLL	细胞穿透肽
224	KPDVRSYTITG	细胞穿透肽
225	DTINNGRDHMILI	细胞穿透肽
226	ANGQTPIQRYIK	细胞穿透肽
227	MILISIGKSQKRM	细胞穿透肽
228	PRARITGYIIKYEKPGSPPREVVPRPRPGV	细胞穿透肽
229	PPFLMLLKWSTR	细胞穿透肽
230	WQPPRARI	细胞穿透肽
231	NQRLASFNAQQS	细胞穿透肽
232	WQPPRARITGYIIKYEKPG	细胞穿透肽
233	ISNVFVQRMSQSPEVLD	细胞穿透肽
234	YEKPGSPPREVVPRPRPGV	细胞穿透肽
235	KARFNVNQLLQD	细胞穿透肽
236	KNNQKSEPLIGRKKT	细胞穿透肽
237	KNSFMALYLSKG	细胞穿透肽
238	EILDVPST	细胞穿透肽
239	KNSFMALYLSKGRLVFALG	细胞穿透肽
240	IDAPS	细胞穿透肽
241	RDSFVALYLSEGHVIFAGLG	细胞穿透肽
242	VVIDASTAIDAPSNL	细胞穿透肽
243	KPRLQFSLDIQT	细胞穿透肽
244	LDVPS	细胞穿透肽
245	DGQWHSVTVSIK	细胞穿透肽
246	REDV	细胞穿透肽
247	FVLYLGSKNAKK	细胞穿透肽
248	PHSRNRGDSP	细胞穿透肽
249	LAIKNDNLVYVY	细胞穿透肽
250	LWVTVRSQQRGLF	细胞穿透肽
251	AYFSIVKIERVG	细胞穿透肽
252	GTNNWWQSPSIQN	细胞穿透肽
253	DVISLYNFKHIY	细胞穿透肽
254	WVTVTLDLRQVFQ	细胞穿透肽
255	FFDGSSYAVVRD	细胞穿透肽
256	RQVFQVAYIIKA	细胞穿透肽
257	LHVFYDFGFGFSNG	细胞穿透肽

[0075]

SEQ ID No.	序列	描述
258	LTRYKITPRRGPT	细胞穿透肽
259	LKKAQINDAKYREISIIYHN	细胞穿透肽
260	LLEFTSARYIRL	细胞穿透肽
261	RAYFNGQSFIAS	细胞穿透肽
262	YIRLRLQRRTL	细胞穿透肽
263	SRLRGKNPTKGK	细胞穿透肽
264	RRYYYSIKDISV	细胞穿透肽
265	LHKKGKNSSKPK	细胞穿透肽
266	SINNTAVNQRLT	细胞穿透肽
267	RLKTRSSHGMIF	细胞穿透肽
268	GGFLKYTVSYDI	细胞穿透肽
269	GEKSQFSIRLKT	细胞穿透肽
270	RDQLMTVLANVT	细胞穿透肽
271	TLFLAHGRLVFM	细胞穿透肽
272	ANVTHLLIRANY	细胞穿透肽
273	LVFMFNVGHKKL	细胞穿透肽
274	AGTFALRGDNPQG	细胞穿透肽
275	TLFLAHGRLVFMFNVGHKKL	细胞穿透肽
276	VLIKGGARKHV	细胞穿透肽
277	DFMTLFLAHGRLVFMGNVG	细胞穿透肽
278	LSNIDYLIKAS	细胞穿透肽
279	HKKLKIRSQEKY	细胞穿透肽
280	LQQSRIANISME	细胞穿透肽
281	GAAWKIKGPIYL	细胞穿透肽
282	NLLLLLVKANLK	细胞穿透肽
283	VIRDSNVVQLDV	细胞穿透肽
284	HRDELLWARKI	细胞穿透肽
285	GLIYYVAHQNM	细胞穿透肽
286	KRRARDLVHRAE	细胞穿透肽
287	DYATLQLQEGRLHFMFDLG	细胞穿透肽
288	SQFQESVDNITK	细胞穿透肽
289	KKGSYNNIVVHV	细胞穿透肽
290	PGGMREKGRKAR	细胞穿透肽
291	ADNLLFYLGSAK	细胞穿透肽
292	MEMQANLLDRL	细胞穿透肽
293	GSAKFIDFLAIE	细胞穿透肽
294	LSEIKLLISAR	细胞穿透肽
295	KVSFLWWVGSGV	细胞穿透肽
296	RDFTKATNIRLRFLR	细胞穿透肽
297	SYWYRIEASRTG	细胞穿透肽
298	ISTVMFKFRIFS	细胞穿透肽
299	YFDGTGFAKAVG	细胞穿透肽

[0076]

SEQ ID No.	序列	描述
300	KQANISIVDIDSN	细胞穿透肽
301	NGQWHKVTAKKI	细胞穿透肽
302	FSTRNESGHILL	细胞穿透肽
303	AKKIKNRLELVV	细胞穿透肽
304	RRQTTQAYYAI	细胞穿透肽
305	GFPGGLNQFGLTTN	细胞穿透肽
306	YAIFLNKGRLV	细胞穿透肽
307	NQFGLTTNIRFRG	细胞穿透肽
308	KNRLTIELEVRT	细胞穿透肽
309	IRSLKLTGKTGKP	细胞穿透肽
310	GLLFYMARINHA	细胞穿透肽
311	AKALELRGVQPV	细胞穿透肽
312	VQLRNGFPYFSY	细胞穿透肽
313	GQLFHVAYILIK	细胞穿透肽
314	HKIKIVRVKQEG	细胞穿透肽
315	NVLSLYNFKTTF	细胞穿透肽
316	DFGTVQLRNGFPFFSYDLG	细胞穿透肽
317	SQRIYQFAKLNYT	细胞穿透肽
318	NIRLRLRTNTL	细胞穿透肽
319	EVNVTLDLGQVFH	细胞穿透肽
320	GKNTGDHFLVYM	细胞穿透肽
321	GQVFHVAYVLIK	细胞穿透肽
322	VVSLYNFEQTFML	细胞穿透肽
323	HQQDLGTAGSCLRKFSTMFLF	细胞穿透肽
324	RFDQELRLVSYN	细胞穿透肽
325	HQQDLGTAGSCLRKFSTMFLFCNI	细胞穿透肽
326	RLVSYSGVLFFLK	细胞穿透肽
327	VAEIDGIEL	细胞穿透肽
328	NWRHISYITRFG	细胞穿透肽
329	GIIFFL	细胞穿透肽
330	KRLQVQLRSIRT	细胞穿透肽
331	ASKAIQVFLG	细胞穿透肽
332	TWYKIAFQRNRK	细胞穿透肽
333	VLVRVERATVFS	细胞穿透肽
334	QVFQVAYIIKA	细胞穿透肽
335	TVFSVDQDNMLE	细胞穿透肽
336	GEFYFDLRLKGDK	细胞穿透肽
337	RLRGPQRVFDLH	细胞穿透肽
338	GTPGPQGIA	细胞穿透肽
339	FDLHQNMGSVN	细胞穿透肽
340	GQRDVV	细胞穿透肽
341	LRAHAVDVNG	细胞穿透肽

[0077]

SEQ ID No.	序列	描述
342	TAGSCLRKFSTM	细胞穿透肽
343	LFSHAVSSNG	细胞穿透肽
344	KGHRGF	细胞穿透肽
345	TAGSCLRKFSTMFLF	细胞穿透肽
346	TAGSCLRKFSTMFLFCNI	细胞穿透肽
347	DLGTAGSCLRKFSTM	细胞穿透肽
348	HQQDLGTAGSCLRKFSTM	细胞穿透肽
349	RNIAEIIKDI	细胞穿透肽
350	SIGFRGDGQTC	细胞穿透肽
351	LNRQELFPFG	细胞穿透肽
352	RIQNLLKITNLRKFVK	细胞穿透肽
353	KKQRFRRNRKGYRSQ	细胞穿透肽
354	SINNTAVMQRLT	细胞穿透肽
355	FRHRNRKGY	细胞穿透肽
356	RYRVRVTPKEKTGPMKE	细胞穿透肽
357	SETTVKYIFRLHE	细胞穿透肽
358	GHRGPTGRPGKRGKQGQKGDS	细胞穿透肽
359	KAFDITYVRLKF	细胞穿透肽
360	GDLGRPGRKGRPGPP	细胞穿透肽
361	YIGSR	细胞穿透肽
362	RGEFYFDLRLKGDK	细胞穿透肽
363	LAGSCLARFSTM	细胞穿透肽
364	LALFLSNGHFVA	细胞穿透肽
365	ISRCQVCMKKRH	细胞穿透肽
366	PGRWHKVSVRWE	细胞穿透肽
367	TDIPPCPHGWISLWK	细胞穿透肽
368	VRWGMQQIQLVV	细胞穿透肽
369	TAIPSCPEGTVPLYS	细胞穿透肽
370	KMPYVSLELEMR	细胞穿透肽
371	GPAGKDGEAGAQG	细胞穿透肽
372	VLLQANDGAGEF	细胞穿透肽
373	GLPGER	细胞穿透肽
374	DGRWHRVAVIMG	细胞穿透肽
375	LAGSCLPVFSTL	细胞穿透肽
376	APVNVITASVQIQ	细胞穿透肽
377	TAGSCLRRFSTM	细胞穿透肽
378	KQGKALTQRHAK	细胞穿透肽
379	TAGSCLRKF	细胞穿透肽
380	RYVVLPR	细胞穿透肽
381	TAGSCL	细胞穿透肽
382	SPYTFIDSLVLPY	细胞穿透肽
383	TAG	细胞穿透肽

[0078]

SEQ ID No.	序列	描述
384	PDSGR	细胞穿透肽
385	QQNLGSVNVSTG	细胞穿透肽
386	SRATAQKVSRRS	细胞穿透肽
387	DPGYIGSR	细胞穿透肽
388	GSLSSHLEFVGI	细胞穿透肽
389	VILQQSAADIAR	细胞穿透肽
390	RNRLHLSMLVRP	细胞穿透肽
391	KDISEKVAVYST	细胞穿透肽
392	APMSGRSPSLVLK	细胞穿透肽
393	LGTIPG	细胞穿透肽
394	AFGV LALWGTRV	细胞穿透肽
395	TDIRVTLNRLNTF	细胞穿透肽
396	IENVVTTFAPNR	细胞穿透肽
397	AFSTLEGRPSAY	细胞穿透肽
398	LEAEFHFTHLIM	细胞穿透肽
399	TSAEAYNLLLR	细胞穿透肽
400	HLIMTFKTRPA	细胞穿透肽
401	LNRRYEQARNIS	细胞穿透肽
402	KTWGVYRYFAYD	细胞穿透肽
403	SLLSQLNNLLDQ	细胞穿透肽
404	TNLRIFVKLHT	细胞穿透肽
405	RDIAEIIKDI	细胞穿透肽
406	KRLVTGQR	细胞穿透肽
407	SHAVSS	细胞穿透肽
408	GPGVVVVERQYI	细胞穿透肽
409	ADTPPV	细胞穿透肽
410	NEPKVLKSYYYAI	细胞穿透肽
411	LRAHAVDING	细胞穿透肽
412	YYAISDFAVGGR	细胞穿透肽
413	DSITKYFQMSLE	细胞穿透肽
414	LPFFNDRPWRRAT	细胞穿透肽
415	YTALIIATDN	细胞穿透肽
416	FDPELYRSTGHGGH	细胞穿透肽
417	VITVKDINDN	细胞穿透肽
418	TNAVGYSVYDIS	细胞穿透肽
419	GLDRESYPYY	细胞穿透肽
420	APVKFLGNQVLSY	细胞穿透肽
421	MKVSATDADD	细胞穿透肽
422	SFSFRVDRRDTR	细胞穿透肽
423	PQVTRGDVFTMP	细胞穿透肽
424	TWSKVGGHLRPGIVQSG	细胞穿透肽
425	KEAEREVTDLLR	细胞穿透肽

[0079]

SEQ ID No.	序列	描述
426	RGDV	细胞穿透肽
427	AAEPLKNIGILF	细胞穿透肽
428	FALWDAIIGEL	细胞穿透肽
429	VGVAPG	细胞穿透肽
430	LWPLLAVLAAVA	细胞穿透肽
431	PGVGV	细胞穿透肽
432	VFDNFVLK	细胞穿透肽
433	TSIKIRGTYSER	细胞穿透肽
434	TTWSQCSKS	细胞穿透肽
435	DPETGV	细胞穿透肽
436	KRSR	细胞穿透肽
437	QGADTPVGV	细胞穿透肽
438	SVVYGLR	细胞穿透肽
439	PLDREAIAKY	细胞穿透肽
440	DGRGDSVAYG	细胞穿透肽
441	HAVDI	细胞穿透肽
442	LALERKDHSG	细胞穿透肽
443	DQNDN	细胞穿透肽
444	YSMKKTTMKIIPFNRLTIG	细胞穿透肽
445	QDPELPDKNM	细胞穿透肽
446	RGDF	细胞穿透肽
447	LVVQAADLQG	细胞穿透肽
448	GVYYQGGTYSKAS	细胞穿透肽
449	NDDGGQFVVT	细胞穿透肽
450	TAGSCLRKFSC	细胞穿透肽
451	YILHVAVTN	细胞穿透肽
452	CNYYSNSYSFWLASLNPER	细胞穿透肽
453	TYRIWRDTAN	细胞穿透肽
454	TGLSCLRFTTM	细胞穿透肽
455	GFTCECSIGFRGDGQTCYGIVFWSEV	细胞穿透肽
456	HHLGGAKQAGDV	细胞穿透肽
457	SCLPGFSGDGRACRDVDECGH	细胞穿透肽
458	MAPRPSLAKKQRFHRNRKGYRSQRGHSRG	细胞穿透肽
459	KKQKFRHRNRKGYRSQ	细胞穿透肽
460	KKQKFKHRNRKGYRS	细胞穿透肽
461	KKQKFRNRNRKGYRSH	细胞穿透肽
462	TAIPPCPHGWISLWK	细胞穿透肽
463	KKQKSRHRSRKRYRS	细胞穿透肽
464	KKQKSRRRSRKGYRS	细胞穿透肽
465	ISRCTVC	细胞穿透肽
466	ISRCQVCMKRRH	细胞穿透肽
467	VSRCTVC	细胞穿透肽

[0080]

SEQ ID No.	序列	描述
468	TDIPPCPQGWISLWK	细胞穿透肽
469	TVKAGELEKIISRCQVMKKRH	细胞穿透肽
470	TDIPSCPHGWISLWK	细胞穿透肽
471	TDIPPCPAGWISLWK	细胞穿透肽
472	TEIPPCPQGWISLWK	细胞穿透肽
473	TDVPPCPQGWISLWK	细胞穿透肽
474	RLVSYNGILFFLK	细胞穿透肽
475	RLVSYSGVIFFLK	细胞穿透肽
476	RLVSYNGILFFL	细胞穿透肽
477	RLVSYSGIIFFLK	细胞穿透肽
478	RFEQELRLVSYSGVLFLLKQ	细胞穿透肽
479	RLVSYNGIIFFLK	细胞穿透肽
480	DPAFKIEDPYSPRIQNLLKITNLRIKFVKL	细胞穿透肽
481	TKRFEQELRLVSYSGVLFLL	细胞穿透肽
482	GGRLKYSAF	细胞穿透肽
483	GGFLRYTVSYDI	细胞穿透肽
484	GGFLKYTVSYDV	细胞穿透肽
485	LGNKLTAFGGFLKYTVSYDIPV	细胞穿透肽
486	GGYLKYTVSYDI	细胞穿透肽
487	GEIFFDMRLKGDK	细胞穿透肽
488	GEIYFDLRLKGDK	细胞穿透肽
489	GEIYLDMLRLKGDK	细胞穿透肽
490	IGQPGAKGEPGEFYFDLRLKGDKGDPGFPG	细胞穿透肽
491	GEVFFDMRLKGDK	细胞穿透肽
492	LAGSCLPIFSTL	细胞穿透肽
493	AHNQDLGLAGSCLARFSTMPFLYCNPGDIC	细胞穿透肽
494	QEKAHNQDLGLAGSCLPVFSTLPFAYCNIH	细胞穿透肽
495	LAGSCLPVFSTM	细胞穿透肽
496	GNKRAHGQDLGTAGSCLRRFSTMPFMFCNI	细胞穿透肽
497	RAHGQDLGTAGSCLRRFSTMP	细胞穿透肽
498	RKRLQVQLNIRT	细胞穿透肽
499	HLVLPLQQSDVRKRLQVQLSIRTFASSGLI	细胞穿透肽
500	RKRLSVQLRIRT	细胞穿透肽
501	DLGTAGSCLRRFSTM	细胞穿透肽
502	RNIAEIIKDI	细胞穿透肽
503	TAGSCLRKFSMRRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
504	FTLTGLLGTLVTMGLLT	细胞穿透肽
505	APYKAWK	细胞穿透肽
506	STSKTNRGDDSNWSKRVTTNNKPS	细胞穿透肽
507	STSKRKRGGDDSNWSKRVTKKKPS	细胞穿透肽
508	STSKRKRGGDDSNWSKRVSKKKPS	细胞穿透肽
509	STSKRKRGGDANWSKRVTKKKPS	细胞穿透肽

[0081]

SEQ ID No.	序列	描述
510	PLAGSKRKRADVAWSKRGTKKKPER	细胞穿透肽
511	PLAGSKRKRADVAWSKRGTKKKPERTSAARAGPSRRIR	细胞穿透肽
512	STSKRKRGDANWSKRTTKKKPSS	细胞穿透肽
513	STSKRKRGDANWSKRTTKKKPSSAGLKRAAGSKADRPSTL	细胞穿透肽
514	PTTAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRT	细胞穿透肽
515	PTTAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRTSAARPGTSVRRIR	细胞穿透肽
516	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMR	细胞穿透肽
517	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMRGSSSRPGPVRGP	细胞穿透肽
518	PTTAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRT	细胞穿透肽
519	PTTAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRTSAARPGTAVRRVR	细胞穿透肽
520	PATAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRTSAAR	细胞穿透肽
521	PATAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRTSAARPGTSVRRIR	细胞穿透肽
522	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMR	细胞穿透肽
523	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMRGSSSRPGPVRGP	细胞穿透肽
524	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMR	细胞穿透肽
525	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMRGSSSRPGPVRGP	细胞穿透肽
526	STSKRKRGDANWNKRPTKKKPSS	细胞穿透肽
527	STSKRKRGDANWNKRPTKKKPSSAGLKRAAGSKAERPSTL	细胞穿透肽
528	SGALKRKRSDVAWSRRRPVKKPV	细胞穿透肽
529	SGALKRKRSDVAWSRRRPVKKPVRRAPPPRAGPSVRRG	细胞穿透肽
530	SGALKRKRSDVAWSRRRPVKKPVRRAPPPRAGPSVRRG	细胞穿透肽
531	SGALKRKRSDVAWSRRRPVKKPVRRAPPPRAGPSVRRG	细胞穿透肽
532	AGALKRKRSDVAWSRRRPVKKPVRRAPPPRAGPSVRRG	细胞穿透肽
533	AGALKRKRSDVAWSRRRPVKKPVRRAPPPRAGPSVRRGL	细胞穿透肽
534	STSKRKRGDSDNWSKRVTKKKPSSAGLKRAAGSKADRPSTLQI QTLQHAGTTMITVPSGGVCDLINTYARGSDENRHTSETLTY KIAIDYHFVADAAACRYSTGTGVMWLVDTPGGQAPTQ TIFSYPDTLKAWPATWKVSRELCHRFVVKRRWLFNMTDGR IGSDIPPSNASWKPCRNIFHKTSGLVRTQWKNVTDGGV GAIQRGALYMPIAPGNGLTFTAHGQTRLYFKSVGNQ	细胞穿透肽
535	DPQNALYYQPRVPTAAPTSGGVPWSRVGEVAILSFVALICFYL LYLWVLRDLILVLKARQGRSTEELIFGGQAVDRSNPIPAPPP SQGNPGPFVPGTG	细胞穿透肽
536	GSQLVPPPSAFNYIESQRDEFQLSHDLTEIVLQFPSTASQITAR LSRSCMKIDHCVIEYRQQVPINASGTVIVEIHDRMTDNESL QASWTFPIRCNIDLHYFSSSFSLKDPIPWKLYYRVSDSNVHQ MTHFAKFKGKLKLSAKHSVDIPFRAPTVKILAKQFSEKDIDF WHVGYGKWERRLVKSASSSRFGLRGPINPGESWATKSAIV TPNRNADLDIEEELPYRELNRLGTNILDPGESASIVGIQRSQS NITMSMSQLNELVRSTVHECIKTSCIPSTPKSLS	细胞穿透肽
537	RTGVKRSYGAARGDDRRRPNVV	细胞穿透肽
538	SYVKTVPNRTRTYIKLRVR	细胞穿透肽
539	MYSTSNRRGRSQTQRGSHVRRRTGVKRSYGAARGDDRRRPN VVSQTQVEPRMTIQRVQENQGFPEFVLSQNSALSTFTVTPSY VKTVPNRTRTYIKLRVRFKGTLKIERGQGDITMDGPSSNIEG	细胞穿透肽

[0082]

SEQ ID No.	序列	描述
	VFSMVIVVDRKPHVSQSGLRHTFDELFGARIHCHGNLSVPPA LKDRYYIRHVTNRVVSLEKDTLLIDLHGTTQLSNKRYNCWA SFSDLERDCNGVYGNITKNALLVYYCWLSDAQSKASTYVSF ELDYL	
540	RRRRRRRRRRRRVVDYGKWERKPIRCASMSR	细胞穿透肽
541	RRRRRRRRRRRRRGKWERKPIRCAS	细胞穿透肽
542	KKKKKKKKKKKKKKKKKKGKWERKPIRCAS	细胞穿透肽
543	RRRRRRRRRRRRRVDFSHVDYGKWERKPIRCASMSRLGLRG	细胞穿透肽
544	GVKRSYGAARGDDRRRPNVVAPYKAWRRRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
545	KSVPNRTRTYIKLRRLRFKGPYKAWRRRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
546	RTGVKRSYGAARGDDRRRPNVVRRRRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
547	SYVKTVPNRTRTYIKGGGGRRRRRRRRRRRRRRR	细胞穿透肽
548	VDIPFRAPTILSKQFTEDDIDFWHVGYGKWERKLVRPASLS GRRGLRR	细胞穿透肽
549	IDFWHVGYGKWERKLVRPASLSGRRGLRR	细胞穿透肽
550	IDFWSVEKGETRRRLNPTPHASPRPIAHR	细胞穿透肽
551	IDFSHVGYGKWERKMIRSASISRLGLHN	细胞穿透肽
552	VDFSHVGYGKWERKLIRSASTVKYGLPS	细胞穿透肽
553	IDFSHVDYGKVERKLKCESSRLGLHS	细胞穿透肽
554	IDFWSVGRKAQQRKLVQGPSLIGSRSMRY	细胞穿透肽
555	IDFWSVGSKPQTRRLVDGSRLLIGHSSRSLRV	细胞穿透肽
556	IDFWSVERGETRRRLNPTPSAGSNRALSQR	细胞穿透肽
557	VDFWSVGKPKPIRRLIQNDPGTDYDTGPKYR	细胞穿透肽
558	VDFWSVEKPKPIRRLNPGPNQGPYPNTGHR	细胞穿透肽
559	VDFSHVDYGKWERKLIRSASTSRYLGRS	细胞穿透肽
560	VDFSHVDYGKWERKTLRSRSLRIGLTG	细胞穿透肽
561	IDFWHVGYGKWERRLVKSASSSRFGIRG	细胞穿透肽
562	VDFHVDYGRWERKHRCASMSRVGLRG	细胞穿透肽
563	GTFQHVDYGKWERKPIRCQSMSRVGYRR	细胞穿透肽
564	VGYGKWERKLVRPASLS	细胞穿透肽
565	VEKGETRRRLNPTPHA	细胞穿透肽
566	VGYGKWERKLIRSASTV	细胞穿透肽
567	VEKPKPIRRLNPGPNQ	细胞穿透肽
568	VDYGKWERKLIRSASTS	细胞穿透肽
569	VDYGKWERKTLRSRSL	细胞穿透肽
570	VGYGKWERRLVKSASSS	细胞穿透肽
571	VDYGRWERKHRCASMS	细胞穿透肽
572	VERPKPIRRLTPTPGC	细胞穿透肽
573	PFRAPTILSKQFTEDDIDFWHVGYGKWERKLVRPASLSGR RGLRR	细胞穿透肽
574	PFRAPTILSKQFTDKDIDFSHVGYGKWERKMIRSASISRLG L	细胞穿透肽
575	DIAFRAPTILSKQFTDRDVFDFSHVGYGKWERKLIRSASTV KYGL	细胞穿透肽

SEQ ID No.	序列	描述
576	DIRFKPPTINILSKDYTADCVDVFSVEKPKPIRRLNPGPNQG PYPNTG	细胞穿透肽
577	DIPFRAPTVKIHKSQFSHRDVDFSHVDYGKWERKTLRSRSL RIGL	细胞穿透肽
578	DIPFRAPTVKILAKQFSEKDIDFWHVGYGKWERRLVKSASS RFGI	细胞穿透肽
579	DIPFRAPTVKILSKQFTDKDVDFHVDYGRWERKHRCASMS RVGL	细胞穿透肽
580	DIKYKPPTIKILSKDYTADCVDVFSVERPKPIRRLLTPTPGCG	细胞穿透肽
581	ARTKQTARKSTGGKAPRKQLATKAARKSAPATGGVK KPHRYR PGTVA	细胞穿透肽
582	SGRGKGGKG LGKGGAKRHRKVLRDNIQGITKPAI	细胞穿透肽
583	GRKKRRQRRR	细胞穿透肽

具体实施方式

[0084] 本公开部分涉及三核苷酸帽类似物、包括三核苷酸帽类似物的组合物和其使用方法，例如用于转录、用于细胞内稳定性、用于检测并分离封端RNA并且用于在体外和体内两者翻译中所得的分离的RNA。如本文所公开三核苷酸帽类似物可以具有作为T7-RNA或其它RNA聚合酶的改进的底物的优势，并且可以导致更好的体外转录产率、5'封端mRNA的改进的细胞内分子稳定性、与其它抗逆转帽类似物(ARCA)底物相比改进的翻译效率、以及改进的转染到特异性细胞系中。

[0085] 除了帽本身，本公开还涉及用于产生封端mRNA分子的组合物和方法。此类组合物和方法包含其中帽被设计成匹配起始位点核苷酸序列并且调配物(例如，体外转录调配物)被设计成促进有效的mRNA(例如，封端mRNA)产生的组合物和方法。此类有效的mRNA产生包含用于产生mRNA分子的组合物和方法，其中高百分比的mRNA分子是封端mRNA(例如，所产生的mRNA分子的总数为约75%至约99%，约80%至约99%，约85%至约99%，约90%至约99%，约95%至约99%，约80%至约96%，约85%至约96%，约90%至约96%等)，并且其中mRNA以高产率(即每1毫升反应混合物中3毫克RNA)产生。

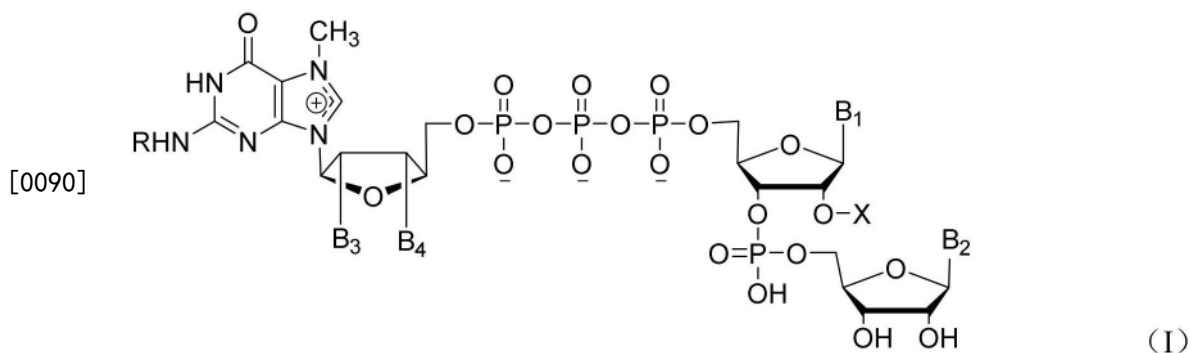
[0086] RNA产率(例如，mRNA产率)可以通过比较产生的RNA的量与用于产生RNA的反应混合物的一种或多种组分的量来确定。可以使用的一个式是对于特定体积的反应混合物，固定量的单一反应混合物组分产生的RNA的量。例如，将CTP浓度为7.5mM的20μl反应混合物用于体外转录，然后RNA产率超过80μg。第二个实例是使用帽浓度为10mM的20μl反应混合物，其中RNA产率为120μg。

[0087] 本文所示的组合物和方法允许产生量大于40μg/20μl(例如，约40μg至约200μg、约40μg至约160μg、约40μg至约120μg、约80μg至约200μg、约80μg至约200μg、约80μg至约180μg、约80μg至约160μg、约80μg至约120μg、约100μg至约150μg等)的RNA。

[0088] RNA产率也可以表示为随反应混合物体积变化而产生的RNA的量。例如，20μl中所产生的100μg的RNA等于1毫升反应混合物中所产生的5mg的RNA。当校正体积时，本文所示的组合物和方法允许以大于或等于2mg/ml(例如，约2mg/ml至约20mg/ml、约2mg/ml至约16mg/ml、约2mg/ml至约10mg/ml、约2mg/ml至约7mg/ml、约4mg/ml至约20mg/ml、约4mg/ml至约20mg/ml、约5mg/ml至约20mg/ml、约6mg/ml至约20mg/ml、约4mg/ml至约20mg/ml、约7mg/ml至约20mg/ml、约4mg/ml至约16mg/ml、约4mg/ml至约18mg/ml、约4mg/ml至约14mg/ml、约

6mg/ml至约16mg/ml、约7mg/ml至约19mg/ml等)的量产生RNA。

[0089] 一个方面是式(I)的三核苷酸帽类似物:



[0091] 其中

[0092] B₃选自-OH、卤素、染料、-OR¹,

[0093] 其中R¹选自炔丙基、叔丁基二甲基甲硅烷基和具有4'C的亚甲基桥;

[0094] B₄选自-OH、染料和-OR²,其中R²选自炔丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基;

[0095] 或者R¹与R²连接,使得B₃和B₄形成-2',3'-O-异亚丙基;

[0096] 条件是B₃和B₄两者不能都是-OH;

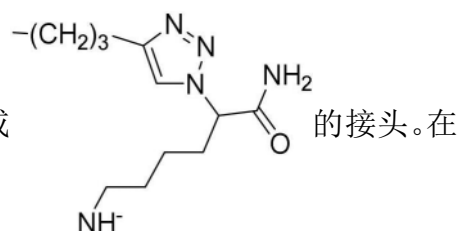
[0097] X选自-H和-CH₃;

[0098] B₁和B₂各自独立地选自腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶;

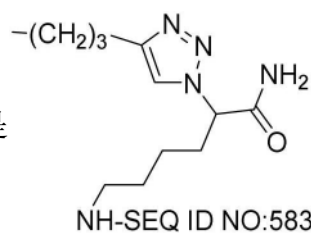
[0099] R选自H、接头结合的细胞穿透肽、与染料共价连接的接头结合的细胞穿透肽和接头结合的染料。

[0100] 在一些实施例中,R选自接头结合的细胞穿透肽,所述接头结合的细胞穿透肽选自SEQ ID NO:1-583中的任一个,其中与所述细胞穿透肽结合的接头可以选自可商购获得的

如生物素、3'马来酰亚胺基苯甲酸N-羟基琥珀酰亚胺酯或



一些实施例中,R是

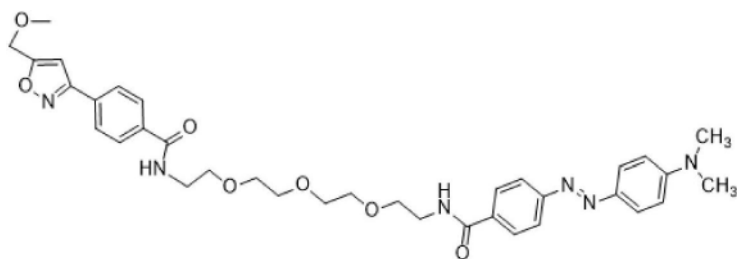


在一些实施例中,R选自与染料共价连接的接头

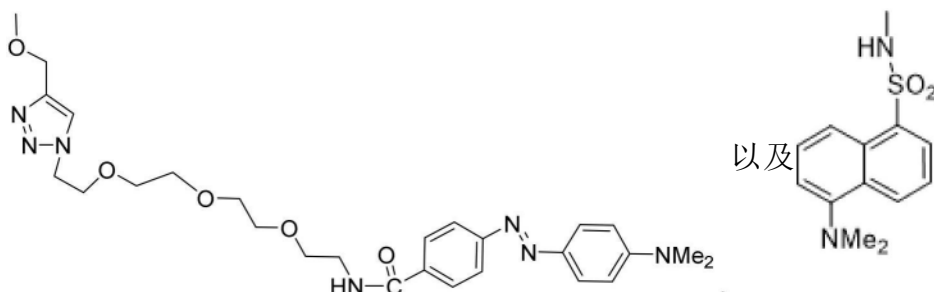
结合的细胞穿透肽,其中所述细胞穿透肽选自SEQ ID NO:1-583中的任一个。在一些实施例中,R是接头结合的染料。

[0101] 在一些实施例中,每种染料独立地选自偶氮苯染料、含氮染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和芘染料。在一些实施例中,每种染料独立地选自:

[0102]

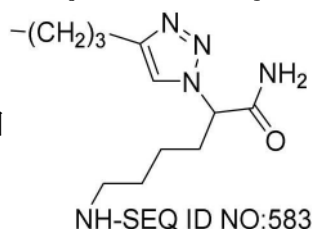


[0103]

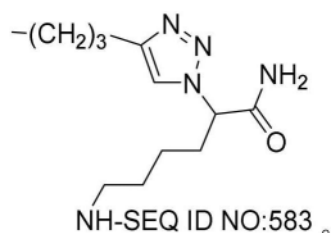


[0104] 在一些实施例中, B_3 是 $-OR^1$ 并且 B_4 是 $-OR^2$, 其中 R^1 与 R^2 连接, 使得 B_3 和 B_4 形成 -2', 3'-O-异亚丙基; X 是 $-CH_3$; 并且 R 是 H 。在一些实施例中, B_3 是 $-OR^1$ 并且 B_4 是 $-OR^2$, 其中 R^1 与 R^2 连接,

使得 B_3 和 B_4 形成 -2', 3'-O-异亚丙基; 并且 R 选自



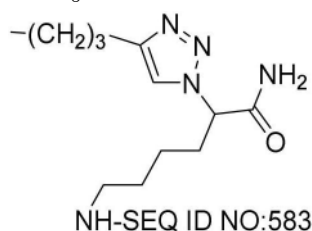
和与染料共价连接的



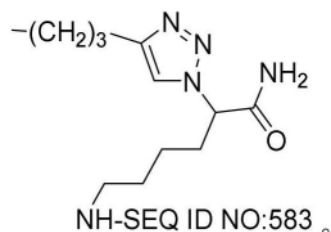
在一些实施例中, B_3 选自 $-OR^1$, 其中 R^1 选自炔丙基和叔丁基二甲基甲

硅烷基; B_4 是 $-OH$; 并且 R 是 H 。在一些实施例中, B_3 选自 $-OR^1$, 其中 R^1 选自炔丙基和叔丁基二甲

基甲硅烷基; B_4 是 $-OH$; 并且 R 选自



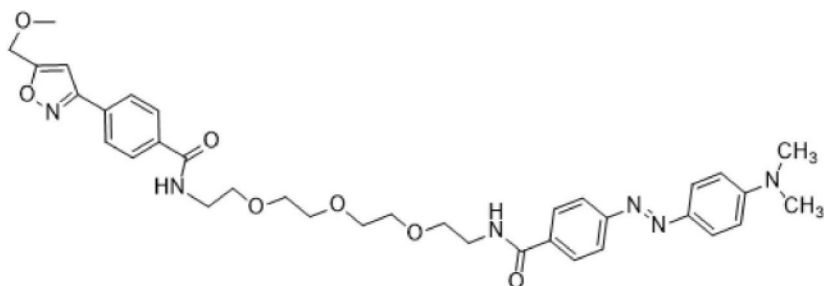
和与染料共价连接的



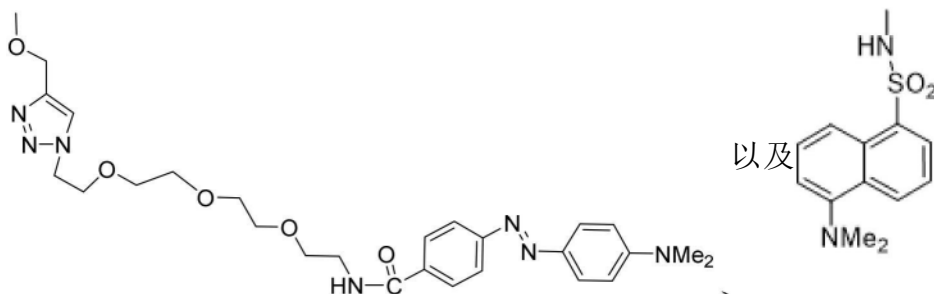
在一些实施例中, 每种染料独立地选自偶氮苯染料、含氮染料、花青

染料、罗丹明染料、香豆素和芘染料。在一些实施例中, 每种染料独立地选自

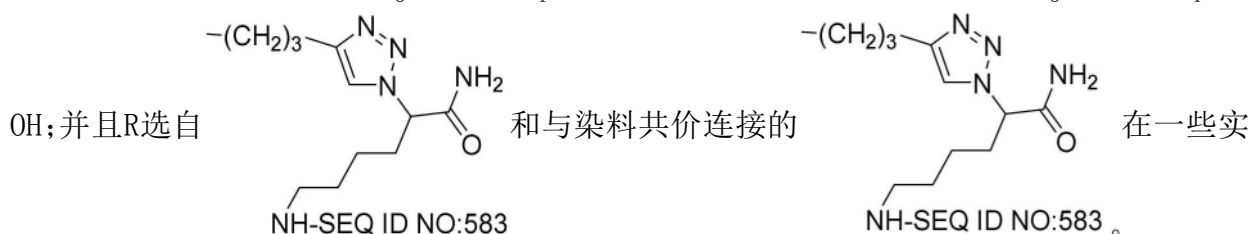
[0105]



[0106]

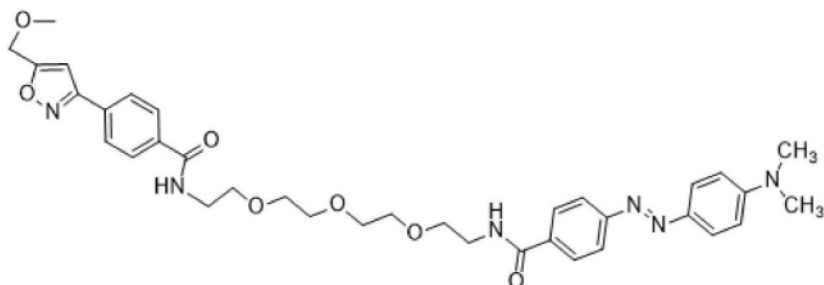


[0107] 在一些实施例中, B_3 是染料; B_4 是 -OH; 并且 R 是 H。在一些实施例中, B_3 是染料; B_4 是 -

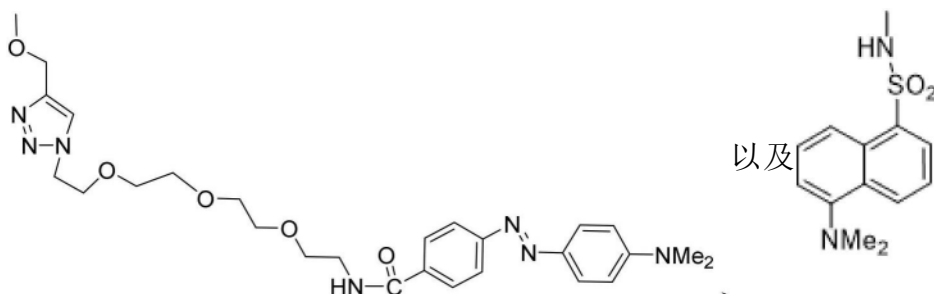


施例中, 每种染料独立地选自偶氮苯染料、含蔡染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和芘染料。在一些实施例中, 每种染料独立地选自

[0108]

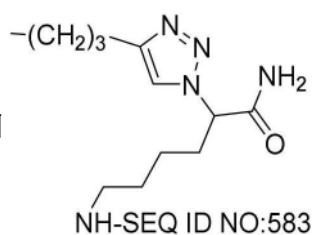


[0109]

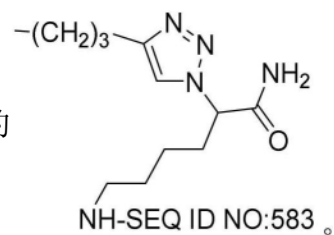


[0110] 在一些实施例中, B_3 是 -OH; B_4 选自 $-OR^2$, 其中 R^2 选自炔丙基和叔丁基二甲基甲硅烷基; 并且 R 是 H。在一些实施例中, 其中 B_3 是 -OH; B_4 选自 $-OR^2$, 其中 R^2 选自炔丙基和叔丁基二甲

基甲硅烷基;并且R选自

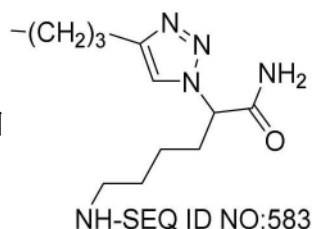


和与染料共价连接的

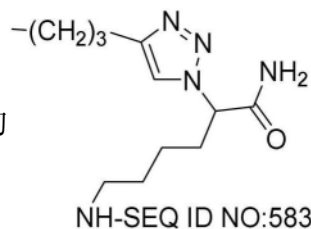


在一些实施例中, B_3 是 -OH; B_4 是染料; R 是 H; 并且 $X = -CH_3$ 。在一些实施例中, B_3 是 -OH; B_4 是染料; 并且 R 选自

料; 并且 R 选自



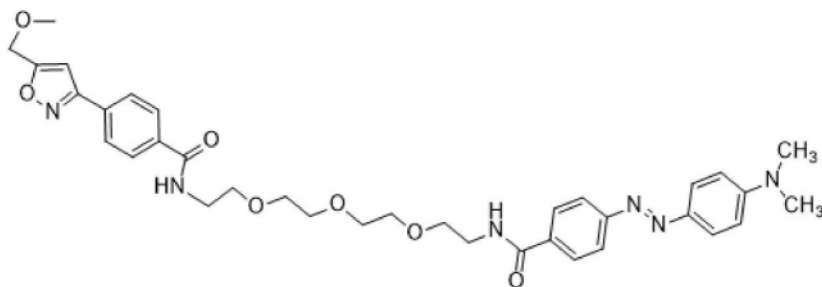
和与染料共价连接的



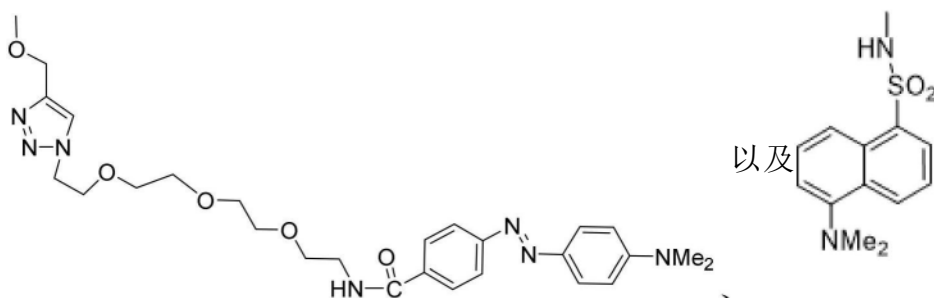
在一些实

施例中, 每种染料独立地选自偶氮苯染料、含蔡染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和苝染料。在一些实施例中, 每种染料独立地选自

[0111]

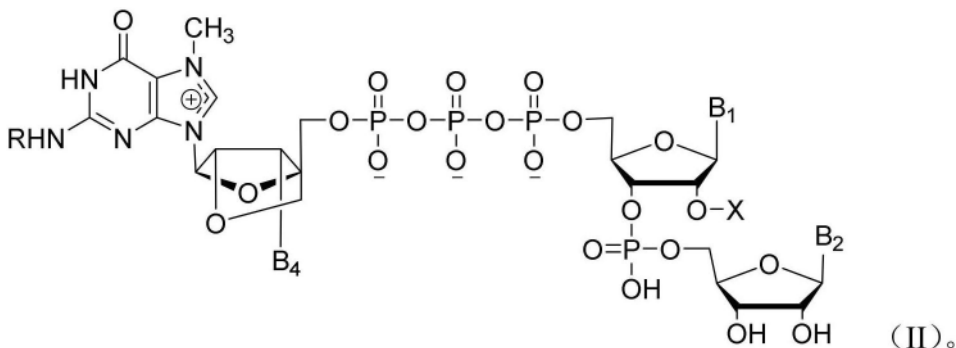


[0112]



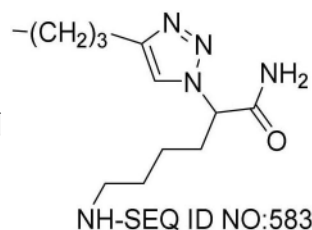
[0113] 在式 (I) 的三核苷酸帽类似物的一些实施例中, B_3 是 $-OR^1$, 并且 R^1 与所述 4' C 形成亚甲基桥, 使得所述三核苷酸帽类似物是式 (I) 是式 (II) 的锁定三核苷酸帽类似物:

[0114]

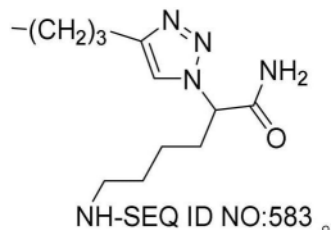


[0115] 在一些实施例中, R 选自接头结合的细胞穿透肽, 其中所述细胞穿透肽选自 SEQ ID NO:1-583 中的任一个。在一些实施例中, R 选自与染料共价连接的接头结合的细胞穿透肽, 其中所述细胞穿透肽选自 SEQ ID NO:1-583 中的任一个。在一些实施例中, B_4 是 -OH 并且 R 是

H。在一些实施例中， B_4 是-OH；并且R选自

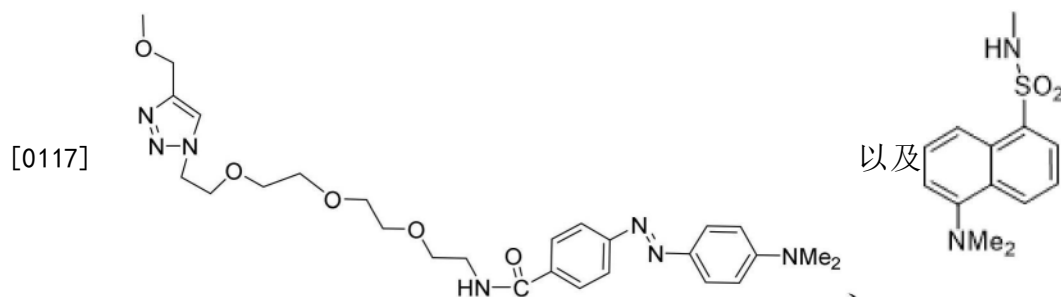
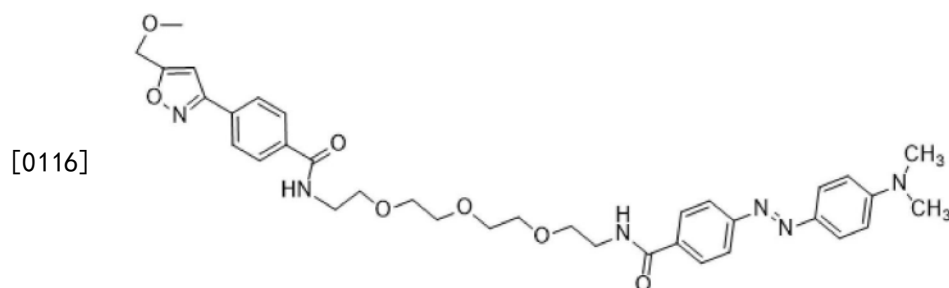


和与染料共价连接的



在一些实施例中， B_4 是染料并且R是H。在一些实施例中，每种染料独

立地选自偶氮苯染料、含蔡染料、花青染料、罗丹明染料、香豆素和芘染料。在一些实施例中，每种染料独立地选自



[0118] 本公开的另一个方面是包括式(I)的三核苷酸帽类似物或本文所公开的其任何实施例的组合物。

[0119] 本公开的另一个方面是制备脂质纳米颗粒的方法，所述方法包括将包括式(I)的三核苷酸帽类似物或本文所公开的其任何实施例的组合物与以下组合：至少一种阳离子脂质，任选地一种或多种中性脂质组合，和任选地一种或多种防止聚集的缀合脂质（例如，PEG脂质和/或聚乙二醇脂质）以及任选地一种或多种细胞穿透肽或其任何组合。

[0120] 本公开的另一个方面是包括具有与其共价键合的式(I)的三核苷酸帽类似物或本文所公开的其任何实施例的RNA的组合物。在一些实施例中，组合物进一步包括至少一种RNA递送剂。在一些实施例中，至少一种RNA递送剂包括至少一种阳离子脂质。在一些实施例中，至少一种RNA递送剂进一步包括至少一种中性脂质。在一些实施例中，至少一种RNA递送剂选自细胞穿透肽。

[0121] 在一些实施例中，至少一种阳离子脂质选自：

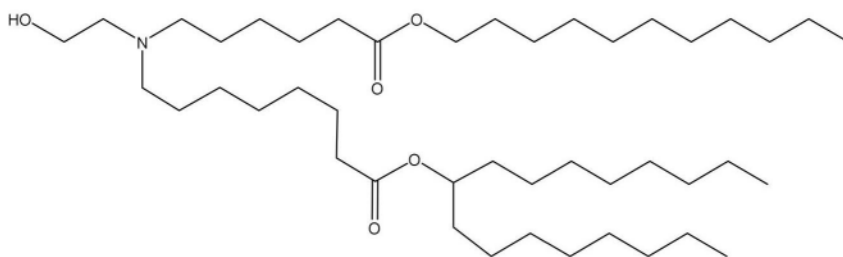
[0122] 2,3-二油烯基氧基-N-[2(精胺甲酰胺基)乙基]-N,N-二甲基-1-丙铵三氟乙酸酯(DOSPA)、1,3-二油酰基氧基-2-(6-羧基-精胺基)丙酰胺(DOSPER)、双十八烷基酰胺基-甘

氨酰精胺 (DOGS)、四甲基四棕榈基精胺 (TMTPS)、四甲基四棕榈酰基精胺 (TMTOS)、四甲基四月桂基精胺 (TMTLS)、四甲基四肉豆蔻基精胺 (TMTMS)、四甲基二油烯基精胺 (TMDOS)、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二油酰基氧基丙基)-2-羟基丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二肉豆蔻基氧基丙基)-2-羟基丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二棕榈基氧基丙基)-2-羟基丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二油酰基氧基丙基)-2-(3-氨基-2-羟丙氧基)丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二肉豆蔻基氧基丙基)-2-(3-氨基-2-羟丙氧基)丙烷-1,3-二胺、N-1-二甲基-N-1-(2,3-二棕榈基氧基丙基)-2-(3-氨基-2-羟丙氧基)丙烷-1,3-二胺、L-精胺-5-羧基-3-(DL-1,2-二棕榈酰基-二甲基氨基丙基-β-羟乙基胺、3,5-(N,N-二赖氨酰基)-二氨基苯甲酰基-甘氨酰基-3-(DL-1,2-二棕榈酰基-二甲基氨基丙基-β-羟乙基胺)、L-赖氨酸-双(0,0'-油酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-赖氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-烷基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、L-赖氨酸-双(0,0'-肉豆蔻酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-鸟氨酸-双(0,0'-肉豆蔻酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-鸟氨酸-双(0,0'-油酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-油烯基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、L-鸟氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、1,4-双[(3-氨基-2-羟丙基)-油烯基氨基]-丁烷-2,3-二醇、1,4-双[(3-氨基-2-羟丙基)-棕榈基氨基]-丁烷-2,3-二醇、1,4-双[(3-氨基-2-羟丙基)-肉豆蔻基氨基]-丁烷-2,3-二醇、1,4-双[(3-油烯基氨基)丙基]哌嗪、L-精氨酸-双(0,0'-油酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、双[(3-(3-氨基丙基)-肉豆蔻基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、L-精氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-丝氨酸-双(0,0'-油酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-棕榈基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、甘氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、肌氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、L-组氨酸-双(0,0'-棕榈酰基-β-羟乙基)酰胺二盐酸盐、胆固醇基-3β-羧基-酰胺基乙烯三甲基碘化铵、1,4-双[(3-肉豆蔻基氨基)丙基]哌嗪、1-二甲基氨基-3-三甲基铵基-DL-2-丙基-胆固醇基甲酸酯碘化物、胆固醇基-3β-羧酰胺基乙烯胺、胆固醇基-3β-氧基琥珀酰胺基乙烯三甲基碘化铵、1-二甲基氨基-3-三甲基铵基-DL-2-丙基-胆固醇基-3β-氧基琥珀酸酯碘化物、2-[(2-三甲基铵基)-乙基甲基氨基]乙基-胆固醇基-3β-氧基琥珀酸酯碘化物、3β[N-(N',N'-二甲基氨基乙烷)氨基甲酰基]胆固醇以及3β-[N-(聚乙烯亚胺)-氨基甲酰基]胆固醇、1,4-双[(3-棕榈酰基氨基)丙基]哌嗪、L-鸟氨酸基酸甘氨酰基-N-(1-十七烷基十八烷基)甘氨酰胺、N²,N⁵-双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基酸甘氨酰基-N-(1-十七烷基十八烷基)甘氨酰胺、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-烷基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L-谷氨酰胺、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L-α-谷氨酰胺、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-油烯基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L-α-天冬酰胺、N-[N²-[N²,N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L-谷氨酰胺酰基]-L-谷氨酸、N²-[N²,N⁵-双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二醇基-L-谷氨酰胺、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二油烯基-L-α-谷氨酰胺、4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-肉豆蔻基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二油烯基-L-α-天冬酰胺、N-[N²-N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-二油

烯基-L-谷氨酰胺酰基]-L-谷氨酸、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-油烯基氨基)丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N,N-二棕榈基-L-谷氨酰胺、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N-二棕榈基-L-α-谷氨酰胺、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N,N-二棕榈基-L-α-天冬酰胺、N-[N²-[N²,N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酰基]-N,N-二棕榈基-L-谷氨酰胺酰基]-L-谷氨酸、N²-[N²,N⁵-双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N,N-二肉豆蔻基-L-谷氨酰胺、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N,N-二肉豆蔻基-L-α-谷氨酰胺、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N,N-二肉豆蔻基-L-α-天冬酰胺、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-棕榈基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、N-[N²-[N²,N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酰基]-N,N-二肉豆蔻基-L-谷氨酰胺酰基]-L-谷氨酸、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-肉豆蔻基氨基)丙基]哌嗪、N²-[N²,N⁵-双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N,N-二月桂酰基-L-谷氨酰胺、N²-8N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N,N-二月桂酰基-L-α-谷氨酰胺、N²-[N²,N⁵-双(氨基丙基)-L-鸟氨酰基]-N,N-二月桂酰基-L-α-天冬酰胺、N-[N²-[N²,N⁵-双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]-N²,N⁵-双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酰基]-N-二月桂酰基-L-谷氨酰胺酰基]-L-谷氨酸、3-[N'N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-双十八碳-9-烯基丙酰胺、3-[N',N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-二棕榈基丙酰胺、3-[N',N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-二肉豆蔻基丙酰胺、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-棕榈基氨基)丙基]哌嗪、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-油烯基氨基)丙基]哌嗪、N,N-(2-羟基-3-氨基丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二醇基氨基丙烷、N,N-(2-羟基-3-氨基丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二棕榈基氨基丙烷、N,N-(2-羟基-3-氨基丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二肉豆蔻基氨基丙烷、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-肉豆蔻基氨基)丙基]哌嗪、[(3-氨基丙基)-双-(2-十四烷基氧基乙基)]甲基溴化铵、[(3-氨基丙基)-双-(2-油烯基氧基乙基)]甲基溴化铵、[(3-氨基丙基)-双-(2-棕榈基氧基乙基)]甲基溴化铵、油酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、2-二癸酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、棕榈酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、1,2-二棕榈酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、肉豆蔻酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、1,2-二肉豆蔻酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、(3-氨基-丙基)->4-(3-氨基-丙氨基)-4-十四烷基氨基甲酰基-丁基氨基甲酸胆固醇酯、(3-氨基-丙基)->4-(3-氨基-丙氨基)-4-氨基甲酰基-丁基氨基甲酸胆固醇酯、(3-氨基-丙基)->4-(3-氨基-丙氨基)-4-(2-二甲基氨基-乙基氨基甲酰基)-丁基氨基甲酸胆固醇酯、精胺-5-羧基甘氨酸(N'-硬脂基-N'-油烯基)酰胺四三氟乙酸盐、精胺-5-羧基甘氨酸(N'-硬脂基-N'-反油基)酰胺四三氟乙酸盐、胍丁胺基羧基胆固醇乙酸盐、精胺-5-羧基-β-丙氨酸胆固醇酯四三氟乙酸盐、2,6-二氨基己酰基β-丙氨酸胆固醇酯双三氟乙酸盐、2,4-二氨基丁酰基β-丙氨酸胆固醇酯双三氟乙酸盐、N,N-双(3-氨基丙基)-3-氨基丙酰基β-丙氨酸胆固醇酯三三氟乙酸盐、[N,N-双(2-羟乙基)-2-氨基乙基]氨基羧基胆固醇酯、硬脂基肉碱酯、棕榈基肉碱酯、肉豆蔻基肉碱酯、硬脂基硬脂酰基肉碱酯氯化物盐、L-硬脂基硬脂酰基肉碱酯、硬脂基油酰基肉碱酯氯化物、棕榈基棕榈酰基肉碱酯氯化物、肉豆蔻基肉豆蔻酰基肉碱酯氯化物、L-肉豆蔻基肉豆蔻酰基肉碱酯氯化物、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-棕榈基氨基)丙基]哌嗪、N-(3-氨基丙基)-N,N'-双-(十二烷基氧基乙基)-哌嗪鎔溴化物、N-(3-氨基丙基)-N,N'-双-(油烯基氧基乙基)-哌嗪鎔溴化物、N-(3-氨基丙基)-N,N'-双-(棕榈基氧基乙基)-哌嗪鎔溴化物、N-(3-氨基丙基)-N,N'-双-(肉豆蔻基氧

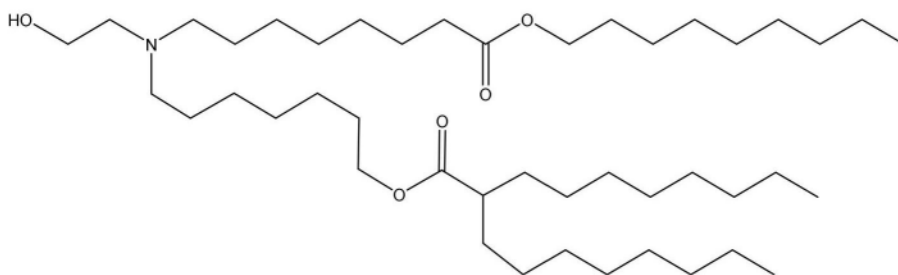
基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-十二烷基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-油烯基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-棕榈基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-肉豆蔻基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物,可用于所述组合物和方法中的磷脂可选自由以下组成的非限制性组:1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DLPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DUPC)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、1,2-双-0-十八烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(18:0二醚PC)、1-油酰基-2-胆固醇基半琥珀酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(OCheMSPC)、1-十六烷基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(C16 Lyso PC)、1,2-二亚油烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(DPPG)、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、二硬脂酰基-磷脂酰基-乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷酸乙醇胺(DMPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱(SOPC)、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE),

[0123] 化合物1



[0124]

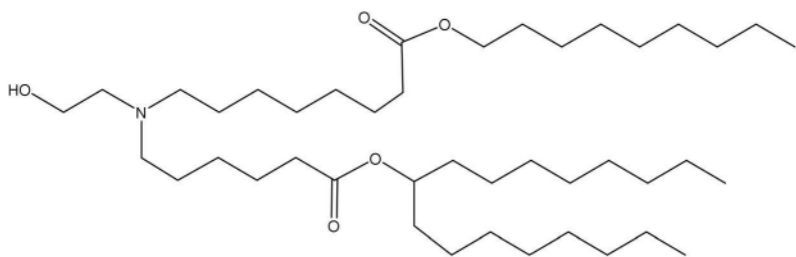
[0125] 化合物2



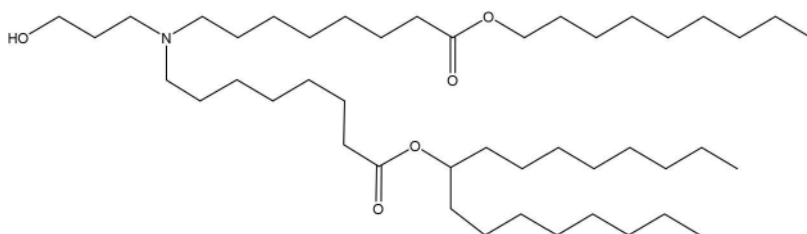
[0126]

[0127] 化合物3

[0128]

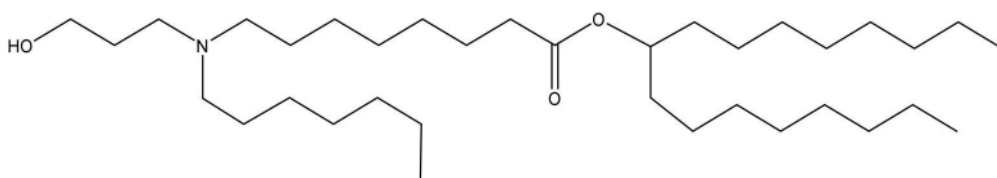


[0129] 化合物4



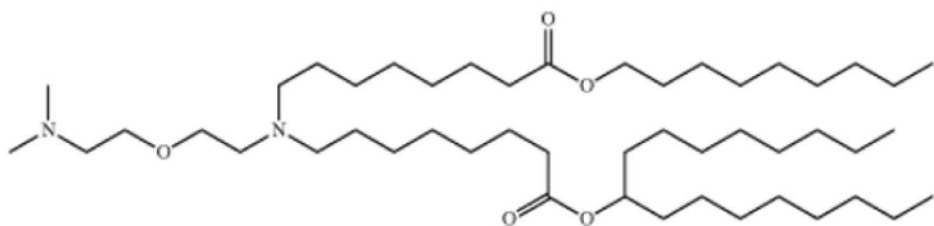
[0130]

[0131] 化合物5



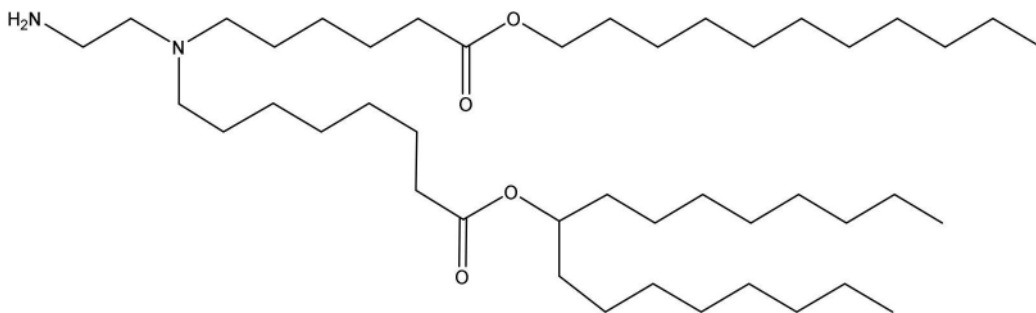
[0132]

[0133] 化合物6



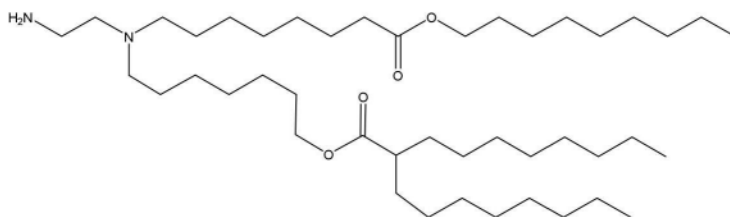
[0134]

[0135] 化合物7



[0136]

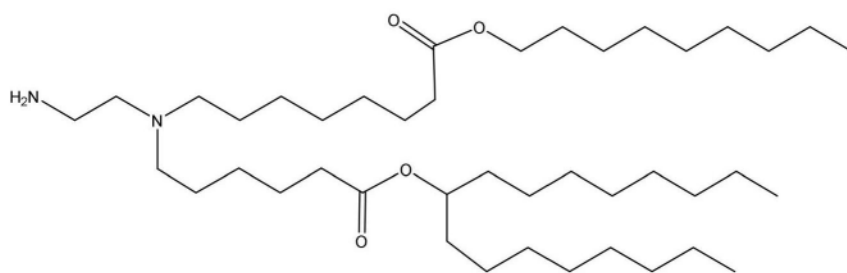
[0137] 化合物8



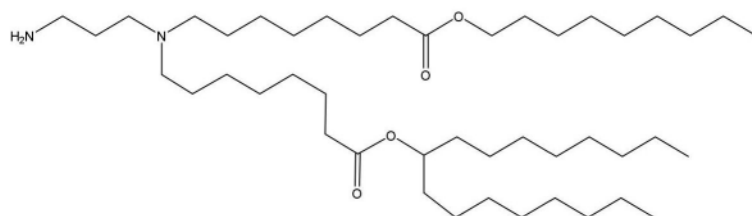
[0138]

[0139] 化合物9

[0140]

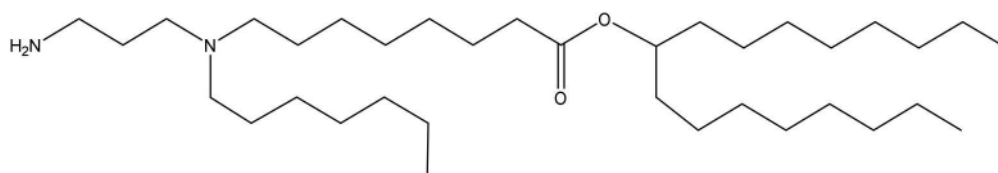


[0141] 化合物10



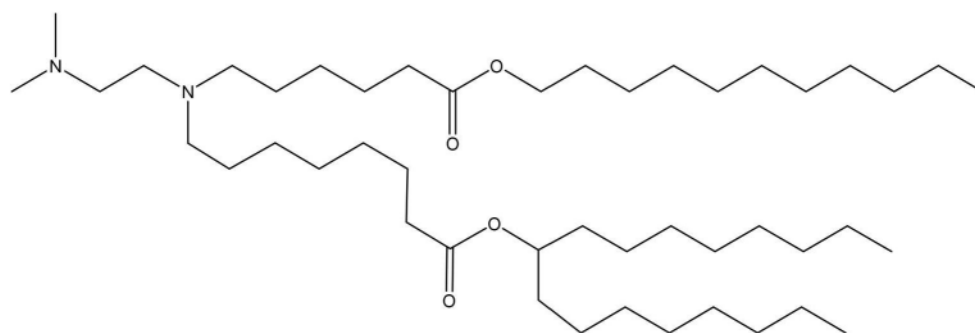
[0142]

[0143] 化合物11



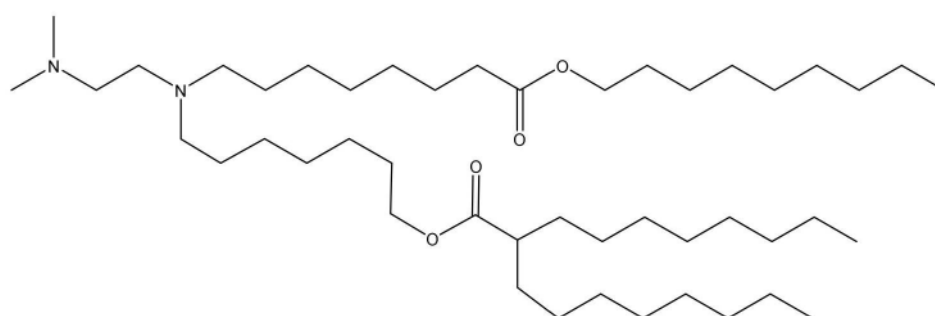
[0144]

[0145] 化合物12



[0146]

[0147] 化合物13:



[0148]

[0149] 化合物14

“一个或多个/一种或多种”显然不合适,否则本文使用的“一个/一种”意指“一个或多个/一种或多种”。“包括(comprise/comprises/comprising)”he“包含(include/includes/including)”的使用是可互换的并且不旨在是限制性的。

[0161] 如本文所使用的,术语“部分”和“基团”可互换地使用以指代通常具有特定功能或结构特征的分子的一部分,例如,连接基团(连接分子的两个其它部分的分子的一部分)或乙基部分(具有与乙烷密切相关的结构的分子的一部分)。

[0162] 如本文所使用的,“Me”等同于“CH₃”“OCH₃”或“OMe”表示与甲基结合的氧原子;“CH₀”表示与氢原子H键合并且与氧原子O双键合的碳原子C, (O=CH-);并且“Et”表示“C₂H₅”。

[0163] 如本文所使用的,碱基名称:腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶可与其大写首字母:分别为“A”、“G”、“C”和“U”互换。

[0164] 如本文所使用的,术语“帽”是指当掺入RNA转录物(通常具有m⁷GpppG或m⁷GpppA结构)的5'端时,促进翻译或定位和/或防止RNA转录物降解的不可延伸的二核苷酸(本文也称为“二聚体”)。帽通常本质上由经修饰的碱基7-甲基鸟苷,通过三个磷酸基团,即PI-鸟苷-5'-基P3-7-甲基鸟苷-5'-基三磷酸(m⁷G5'ppp5'G)以相反的朝向,即5'至5'而不是5'至3'与分子的其余部分连接。

[0165] 如本文所使用的,术语“帽类似物”是指其差异小至单个元素的RNA帽的结构衍生物。帽类似物可以是三核苷酸(本文也称为“三聚体”),以及五聚体和更长的多聚体(例如,长度为五个、六个、七个、八个或九个核苷酸的核酸多聚体)。

[0166] 如本文所使用的,术语“封端寡核苷酸”或“封端引物”是指在引物的5'端上含有Cap 0、Cap 1、Cap 2或2,2,7-三甲基鸟苷(TMG)-Cap结构的转录起始引物。封端引物通常具有未经修饰的或开放的3'-OH基团,并且其可以通过RNA聚合酶通过将NTP掺入到引物的3'端上来延伸。此类寡核苷酸通常能够在转录系统中的启动子的控制下启动体外转录。术语“封端寡核苷酸”或“封端引物”包含如本文中所示的可以用于通过转录产生封端RNA分子的帽(参见,例如,在图9中所示的工作流程中产生的帽类似物)。本文还使用的,“起始引物”或“起始寡核苷酸引物”是指携带可以作为RNA聚合酶在RNA合成起始(例如,模板指导的RNA合成)中的底物的末端3'-OH基团的寡核苷酸。例如,可以通过转录添加到RNA分子中的天然存在的帽是帽引物。因此,帽引物可以包含天然存在的帽或帽类似物,如本文所示的帽或帽类似物。

[0167] 除非另有说明,否则如本文所指的术语“核苷酸”包含天然存在的核苷酸、合成核苷酸和经修饰的核苷酸。

[0168] 术语“三核苷酸帽类似物”是指包括三个核苷酸的帽或帽类似物。例如,在图9中所示的工作流程中产生的帽类似物是三核苷酸帽类似物,其中第一个核苷酸(左侧)与其它两个核苷酸(右侧)被三个磷酸基团分开。右侧两个核苷酸中的至少一个核苷酸通常被设计成与起始位点杂交并作用于由RNA聚合酶驱动的引物转录。本文所示和使用的帽和帽类似物可以长于三个核苷酸。例如,可以存在类似于图9右手侧的核苷酸的多于两个的核苷酸。具体地,帽和帽类似物可以含有四至二十个核苷酸,其中三至十九个核苷酸(例如,约三至约十六个,约三至约十二个,约四至约十六个,约四至约十个,约五至约十个等)可能能够与起始位点杂交并作用于由RNA聚合酶驱动的引物转录。

[0169] 如本文所使用的,术语“启动子”是指被RNA聚合酶识别并且能够作为可操作连接的核酸区的起始模板的核酸区,从而导致所有可操作连接的核酸区的一部分的转录。启动子可以是真核生物、原核生物、病毒或细胞器来源的启动子。进一步地,启动子可以是天然存在的、经修饰的天然存在的或合成的(例如,两个天然存在的启动子的融合或由天然存在的启动子的共有序列设计的启动子)。一类启动子是“T7样”启动子,如在图16中所示的。

[0170] 在许多情况下,启动子将是由模板链和非模板链组成的双链核酸。图16示出了四种不同启动子的非模板链并且图17示出了噬菌体启动子的一部分的模板链和非模板链。

[0171] 在一些情况下,启动子将是由模板链或非模板链组成的单链核酸。此类启动子的实例是RNA和DNA单链病毒(例如,甲病毒、汉坦病毒和黄病毒)的启动子。

[0172] 启动子通常紧邻(或部分重叠)待转录的核酸。启动子中的核苷酸位置通常相对于转录起始位点指定,所述转录起始位点在野生型系统中通常称为位置+1(参见图16)。起始寡核苷酸引物(例如,mRNA帽或帽类似物)的至少一个碱基与用于起始转录的启动子序列起始位点的模板链互补(例如,位置+1、-1和+1,或+1和+2,如在图16中所示出的)。

[0173] 如本文中的,术语“起始复合物”是指引物与核酸分子的模板链在允许通过RNA聚合酶起始RNA分子转录的条件下的缔合。在许多情况下,引物将是帽类似物(例如,本文所提供的mRNA帽类似物)。示例性帽类似物RNA起始复合物结构在图17中示意性地示出。

[0174] 如本文中的,术语“起始位点”是指启动子的模板链上的一个或多个碱基,其中封端引物结合以起始RNA转录。在许多情况下,起始位点将通过非-模板链的核苷酸序列鉴定(参见,例如,图16)。本文中起始位点和周围核酸两者的数值均参照天然起始位点(参见例如图16)。因此,使用图17作为参考,基于具有GG封端引物(CAP3)的T7启动子的天然存在的转录起始被认为通常在位置+1处开始。因此,AG封端引物(CAP2)在图17的位置-1和+1处的杂交意指封端引物与“TATA盒”的一个碱基和+1位置(天然存在的起始位点)杂交。在此类情况下,转录起始从-1位置处开始。进一步地,当封端引物与位置-1和+1杂交时,起始位点然后位于位置-1和+1处。

[0175] 如本文所使用的,术语“体外转录和翻译(IVTT)”是指信使RNA(mRNA)分子的产生以及从这些mRNA分子产生蛋白质。通常,IVTT将采用含有转录和翻译“机器”(例如,核糖体、tRNA合成酶、带电荷和不带电荷的tRNA分子、RNA聚合酶等)的细胞提取物。这些是能够进行转录和翻译反应的细胞组分。与包含T7 RNA聚合酶和核苷酸的转录组分一起,IVTT可以用于转录和翻译以经纯化的DNA分子形式供应的基因。IVTT反应中使用的细胞组分基本上可以针对任何细胞类型获得,并且可以补充各种试剂(例如,缓冲液、氨基酸、tRNA分子等)。

[0176] IVTT反应由两个子组分组成:(1)“体外转录”(IVTr或IVT)以及(2)“体外翻译”(IVT1)。这些过程可以在单一反应混合物中发生或者可以在单独的反应混合物中进行。

[0177] 如本文所使用的,术语“阳离子脂质”是指在生理条件下具有至少一个正电荷的脂质。

[0178] 术语“ARCA”或抗逆转帽类似物是指经修饰的帽类似物,其中m⁷G的3'-OH基团或2'-OH基团被修饰。此修饰迫使RNA聚合酶用帽的G残基中剩余的-OH基团起始转录,并且因此合成仅以正确朝向封端的RNA转录物。因此,与使用传统帽类似物的转录反应相比,使用本文所提供的帽类似物允许合成100%功能性的封端RNA,在所述传统帽类似物中只有一半的帽类似物以正确的方朝向掺入。本文所提供的封端mRNA用于网织红细胞裂解物、小麦胚

芽裂解物和其它体外系统中的蛋白质合成,或者可以例如显微注射、电穿孔或转染到细胞或生物体中以进行体内研究。其还可以用于RNA剪接和稳定性研究。

[0179] 如本文所使用的,术语“细胞穿透肽”是指经修饰的肽或有助于细胞摄取RNA的其它实体,例如,通过促进货物分子从膜转移到细胞质和细胞核。可用于本文所公开的实施例的合适的细胞穿透肽的非限制性实例包含表2中所列的肽,并且表2中所列的肽任选地与染料共价连接:

[0180] 表2

SEQ ID No.	序列
1	GYSTPPKKRKVEDP
2	GYSTPPKTRRRP
3	GYSTPGRKKR
4	GYSTPRNRNRRRW
5	PDEVKRRKKPPTSYP
6	PRRRTKPPTSYP
7	RKKRGPTSYP
8	WRRRRNRNRRPTSYP
9	GYGPPKKRKVEAPYKA
10	PAAKRVKLD
11	RQRRNELKRSP
12	KRPAATKKAGQAKKKK
13	VRKKRKTEESPLKDKDAKKSQ
14	RLRRDAGGRGGVYEHGGAPRRRK
15	KRKGDEVGDGVDECAKKS
16	NQSSNFGPMKGGNFGGRSSGPYGGGGQYFAKPRNQGGY
17	GGKRTADGSEFESPKKARKVEAYPKAW
18	GGKRTADGSEFESPKKKRAVEAYPKAW
19	GGKRTADGSEFESPKKKAKVEAYPKAW
20	GGKRTADGSEFESPKKKRKVEAPYKAWK
21	GGKRTADGSEFESPKKKRKVEYKAWK
22	GYGPAAKRVKLDEAYPKAWK
23	GGKRTADGSEFEPAAKRVKLDEAYPKAWK
24	GTGPKKRKVGGGGYGPKKKRLVG
25	KRPAATKKAGQAKKKKLEAYPKAWK

[0182]

SEQ ID No.	序列
26	ATKGTKRSYEQMETGE
27	GKWERKPIRCAS
28	GYGKRTADSQHSTPPKKKRKVEAPYKAWK
29	KRTADSQHSTPPKKKRKVEAPYKAWK
30	GYGPPKKKRKVEAPYKAWKWAKYPAMRRAHHRRRRASHRRRTTTGT
31	GYGPPKKKRKVEAPYKAWKRGARRYSKMKRRRRRVARRHRRRP
32	FWGYGYGPPKKKRKVEAPYKAWK
33	GKPSSDDEATADSQHSTPPKKKERKVED
34	GKPTADDQHSTPPKKKRKVED
35	GGKRTADGSEFESPKKARKVEAYPKAK
36	EKIRLRPGRKKRYRLKHL
37	PEGTRQARRNRRRRWRKR
38	PEGTRQPRNRRRRWRKR
39	GVKRSYGAARGDDRRRPNVAPYKAW
40	KSVPNRTITYIKLRKLRFKGAPYKAW
41	EMRRRREEEGLQLRKQKREEQLFKRRN
42	FEAALAEALAEALA
43	Ac-LARLLPRLARL-NHCH ₃
44	GLLEELLEELLEELWHEELLEG
45	GWEGLIEGIEGGWEGLIEG
46	GLFEALAEFIEGGWEGLIEG
47	GLFEALLELLESLWELLLEA
48	GGYCLEKWMIVASELKCFGNTA
49	GGYCLTRWMLIEAELKCFGNTAV
50	WEAALAEALAEALAEHLAEALAEALEALAA
51	GLFGAIAAGFIENGWEGMIDGWYG
52	GIGAVLKVLTGLPALISWIKRKRQQ
53	GRKKRRQRRRPPQ
54	RQIKIWFQNRRMKWKK
55	GWTLSAGYLLGKINLKALAALAKKIL
56	WEAKLAKALAKALAKHLAKALAKALKACEA
57	GLFKALLKLLKSLWKLLKA
58	GLFRALLRLRLSLWRLLLRA
59	GLFEALLELLESLYELLLEA
60	GLFEALEELWEA
61	GLFLLEEWLE

[0183]

SEQ ID No.	序列
62	GLFLLEEWLEK
63	GLFEALLELLESLWELLLEAK
64	Suc-GLFKLLEEWLE
65	Suc-GLFKLLEEWLEK
66	GLFEAIAEFIEGGWEGLIEG
67	GLFKAIKFIKGGWKGLIKG
68	IRFKKTKLIASIAMALC
69	ALAGTIAGASLTFQVLDKVEELGKVSRK
70	GLFEAIEGFIENGWEGMIDGWYG
71	GYICRRARGDNPDDRCT
72	GLFEAIAEFIEGGWEGLIEGCA
73	GLFHAIAHFIHGGWHGLIHGWYWG
74	RRRQRRKKRGGDIMGEWGNEIFGAIAGFLG
75	GLFEAIAEFDIENGWEGMIDGGG
76	ALAGTIAGASLTFQVLDKVEELGKVSRKK
77	IRFKKTKLIASIAMA
78	GLWHLLLHLWRRLRLRLR
79	KKIMLLMTLLLVSLPLAQEQ
80	GLFEALLELLESLWELLLEAWYG
81	RLRLRLRLWRRLRLRLR
82	LLELELELELELELELELELELELE
83	GLFEALLELLESLWELLLEARRRRRRRR
84	GLFEALLELLESLWELLLEARRRRRRR
85	GLFEALLELLESLWELLLEAKKKKKKKK
86	GLFEALLELLESLWELLLEAKKKKKKK
87	GLFEALLELLESLWELLLEAKK
88	GLFEALLELLESLWELLLEAKKKK
89	GLFEALLELLESLWELLLEAEE
90	GLFEALLELLESLWELLLEAEEEE
91	GLFEALLELLESLWELLLEAEEEEEE
92	GLFEALLELLESLWELL
93	PLSSIFSRIGDPRGARRYAKMKRRRRRRVARRHRRRP
94	GPFHYFQFLPPV
95	GSSSWWQRWWPPW
96	RRRQRRKKR
97	KKKK

[0184]

SEQ ID No.	序列
98	KKKKKK
99	KKKKKKKK
100	KKKKKKKKKK
101	KKKKKKKKKKKK
102	KKKKKKKKKKKKKKKK
103	KKKKKKKKKKKKKKKKKKKK
104	KKKKKKKKKKKKKKKKKKKKKKKK
105	RRRR
106	RRRRRR
107	RRRRRRRR
108	RRRRRRRRRR
109	RRRRRRRRRRRR
110	RRRRRRRRRRRRRRRR
111	RRRRRRRRRRRRRRRRRRRR
112	RRRRRRRRRRRRRRRRRRRRRRRR
113	YKA
114	KKKKKKKKWKGGGGACYGLPHLFCG
115	YKAKKKKKKKKKWK
116	KTPKKAKKPKTPKKAKKP
117	KKAKKPAATRKSSKNPKPKTVKPKKVAK
118	RGARRYSKMKRRRRRVARRHRRRP
119	TRQARRNRRRRWRERQRGSGSG
120	KRPRGRPKGSKKNWRRRKRRASRRSPRRR
121	KRGRGRPRKQPPKEPSEVPTPKRPRGRPKGSKNK
122	KEKYEKDIAAYRAKGKPAAKKGVVKAESKSKKK
123	YKAKKKKKKKKKKKWK
124	KKKKKKKGGC
125	YRARRRRRRRRWR
126	YRARRRRRRRRRRWR
127	KGDPKKPRGKMSSYAFFVQTCREEHKKKHPDASVNFSEFSKK
128	KKQLKKQLKKQLKQWK
129	KKSPKKSPKKSPKKSK
130	KLSKLEKSKLEK
131	KLSKLEKKLSKLEKSKLEK
132	KSLKKSLKKSLKKSK
133	KIRRRGKNKVAARTCRQRRTDR

[0185]

SEQ ID No.	序列
134	KIRRRGKNKVAAQNCRKRKLET
135	KRRIRREKNKMAAAKCRNRRRELT
136	KDRSNLLERHTR
137	KRPAATKKAGQAKKKL
138	RRRRRREEEE
139	RRRRRREEEEE
140	RRRRRREEEEEEE
141	RRRRRRRREEEE
142	RRRRRRRREEEEE
143	RRRRRRRREEEEEEE
144	RRRRRRRRRRRREEEE
145	RRRRRRRRRRRREEEEE
146	RRRRRRRRRRRREEEEE
147	KLSKLEKK
148	SKLEK
149	KLSKLEKKLSKLEKK
150	PKKKRKVGGGRGDSP
151	LPHKSMPCG
152	GACLQHKSMPCG
153	YGLPHLFCG
154	SERSMNFCG
155	DHYSLYEDLERGTDK
156	ISLPRTSGAQRATR
157	EKLQTKYGLPHKVEFCG
158	TRISESQAKPGD
159	LVFFDY
160	WGGNGPTTFDCSGYTKYVFAK
161	INIGTTGWGDHYSLY
162	YDNIHG
163	AGWGKFLVGFRV
164	SIGYPLP
165	TTHWGFTL
166	HLQIQPYPQISG
167	KLNIVSVNG
168	RGH
169	DNRIRLQAKAA

[0186]

SEQ ID No.	序列
170	KIKMVISWKG
171	LPWYSYLYAVSA
172	WNLPWYYSVSPT
173	WNL
174	PWYYSVSPT
175	SSWESYKSGGGTRL
176	RDWSSQHPGRCNGETHLK
177	SLPTLTL
178	VICTGGDYSFALPVGQWPVMT
179	DKPSYQFGGHNSVDFEEDTLPKV
180	RARRRKRASATQLYQTCKASGTCPPD
181	SGDYSFALPVGQWPWMTG
182	CTGGDYSFALPVGQWPW
183	FYYDYDFFFDYWGQG
184	HLRRLRRLLREAEG
185	DYYCAAWDDSLNGYSVF
186	YYCLQSMEDPYTFGG
187	YYCARSDGNYGYYYALDYDY
188	AARSPSYRYDY
189	GPYYAMDYD
190	YYCQQRSSYPYTEGGAYPKAWK
191	YYCQRYDSDWSFGQGTKL
192	YYCARSGYYAMDYWGQGT
193	RVRRGACRGDCLG
194	RVRRGACRYDCLG
195	YYCAKGTHWGFWSGYFDYWGQGT
196	GRENYHGCTTHWGFTLC
197	VQATQSNQHTPRGGGSK
198	DPRAPGS
199	YYCQQRSSYPYTFGG
200	AARSPSYRYDYGPYYAMDYD
201	GPKLTGILISILSLFVES
202	KYILRWRPKNS
203	IKVAV
204	WTPPRAQITGYRLTVGLTRR
205	AASIKVAVSADR

[0187]

SEQ ID No.	序列
206	KLDAPT
207	NRWHSIYITRFG
208	PHSRN
209	SSFHFDGSGYAM
210	RGDS
211	IAFQRN
212	GRGDSP
213	TWYKIAFQRRK
214	EDGIHEL
215	SLVRNRRVITIQ
216	YRVRVTPKEKTGPMKE
217	LQVQLSR
218	SPPRRARVT
219	RKRLQVQLSIRT
220	ATETTITIS
221	NAPFPKLSWTIQ
222	VSPRRARVTDATETTITISWRTKTETITGG
223	WTIQTTVDRGLL
224	KPDVRSYTITG
225	DTINNGRDHMILI
226	ANGQTPIQRYIK
227	MILISIGKSQKRM
228	PRARITGYIIKYEKPGSPPREVVPRPRPGV
229	PPFLMLLKGSTR
230	WQPPRARI
231	NQRLASFSSNAQQS
232	WQPPRARITGYIIKYEKPG
233	ISNVFVQRMSQSPEVLD
234	YEKPGSPPREVVPRPRPGV
235	KARSFNVNQLLQD
236	KNNQKSEPLIGRKKKT
237	KNSFMALYLSKG
238	EILDVPST
239	KNSFMALYLSKGRLVFALG
240	IDAPS
241	RDSFVALYLSEGHVIFAGLG

[0188]

SEQ ID No.	序列
242	VVIDASTAIDAPSNL
243	KPRLQFSLDIQT
244	LDVPS
245	DGQWHSVTVSIK
246	REDV
247	FVLYLGSKNAKK
248	PHSRNRGDSP
249	LAIKNDNLVYVY
250	LWVTVRSQQRGLF
251	AYFSIVKIERVG
252	GTNNWWQSPSIQN
253	DVISLYNFKHIY
254	WVTVTLDLRQVFQ
255	FFDGSSYAVVRD
256	RQVFQVAYIIKA
257	LHVFYDFGFGFSNG
258	LTRYKITPRRGPT
259	LKKAQINDAKYREISIIYHN
260	LLEFTSARYIRL
261	RAYFNGQSFIAS
262	YIRLRLQRRTL
263	SRLRGKNPTKGK
264	RRYYYSIKDISV
265	LHKKGKNSSKPK
266	SINNTAVNQRLT
267	RLKTRSSHGMIF
268	GGFLKYTVSYDI
269	GEKSQFSIRLKT
270	RDQLMTVLANVT
271	TLFLAHGRLVFM
272	ANVTHLLIRANY
273	LVFMFNVGHKKL
274	AGTFALRGDNPQG
275	TLFLAHGRLVFMFNVGHKKL
276	VLIKGGRARKHV
277	DFMTLFLAHGRLVFMGNVG

[0189]

SEQ ID No.	序列
278	LSNIDYLIKAS
279	HKKLKIRSQEKY
280	LQQSRIANISME
281	GAAWKIKGPIYL
282	NLLLLLVKANLK
283	VIRDSNVVQLDV
284	HRDELLWARKI
285	GLIYYVAHQNM
286	KRRARDLVHRAE
287	DYATLQLQEGRLHFMFDLG
288	SQFQESVDNITK
289	KKGSYNNIVVHV
290	PGGMREKGRKAR
291	ADNLLFYLGSAK
292	MEMQANLLDRL
293	GSAKFIDFLAIE
294	LSEIKLLISAR
295	KVSFLWWVGSGV
296	RDFTKATNIRLRFLR
297	SYWYRIEASRTG
298	ISTVMFKFRIFS
299	YFDGTGFAKAVG
300	KQANISIVDIDSN
301	NGQWHKVTAKKI
302	FSTRNESGILL
303	AKKIKNRLELVV
304	RRQTTQAYYAI
305	GFPGLNQFGLTTN
306	YAIFLNKGRLV
307	NQFGLTTNIRFRG
308	KNRLTIELEVRT
309	IRSLKLTKGTGKP
310	GLLFYMARINHA
311	AKALELRGVQPVS
312	VQLRNGFPYFSY
313	GQLFHVAYILIKF

[0190]

SEQ ID No.	序列
314	HKIKIVRVKQEG
315	NVLSLYNFKTTF
316	DFGTVQLRNGFPFFSYDLG
317	SQRIYQFAKLNIT
318	NIRLRFLRTNTL
319	EVNVTLDLGQVFH
320	GKNTGDHFLVYM
321	GQVFHVAYVLIKF
322	VVSLYNFEQTFML
323	HQQDLGTAGSCLRKFSTMFLF
324	RFDQELRLVSYN
325	HQQDLGTAGSCLRKFSTMFLFCNI
326	RLVSYSGLVFFLK
327	VAEIDGIEL
328	NWRHISYITRFG
329	GIIFFL
330	KRLQVQLRSIRT
331	ASKAIQVFLGG
332	TWYKIAFQRNRK
333	VLVRVERATVFS
334	QVFQVAYIIKA
335	TVFSVDQDNMLE
336	GEFYFDLRLKGDK
337	RLRGPQRVFDLH
338	GTPGPQGIA
339	FDLHQNMGSVN
340	GQRDVV
341	LRAHAVDVNG
342	TAGSCLRKFSTM
343	LFSHAVSSNG
344	KGHRGF
345	TAGSCLRKFSTMFLF
346	TAGSCLRKFSTMFLFCNI
347	DLGTAGSCLRKFSTM
348	HQQDLGTAGSCLRKFSTM
349	RNIAEIIKDI

[0191]

SEQ ID No.	序列
350	SIGFRGDGQTC
351	LNRQELFPFG
352	RIQNLLKITNLRIKFVK
353	KKQRFRRHRNRKGYRSQ
354	SINNTAVMQRLT
355	FRHRNRKGY
356	RYRVRVTPKEKTGPMKE
357	SETTVKYIFRLHE
358	GHRGPTGRPGKRGKQGQKGDS
359	KAFDITYVRLKF
360	GDLGRPGRKGRPGPP
361	YIGSR
362	RGEFYFDLRLKGDK
363	LAGSCLARFSTM
364	LALFLSNGHFVA
365	ISRCQVCMKKRH
366	PGRWHKVSVRWE
367	TDIPPCPHGWISLWK
368	VRWGMQQIQLVV
369	TAIPSCPEGTVPPLYS
370	KMPYVSLELEMR
371	GPAGKDGEAGAQG
372	VLLQANDGAGEF
373	GLPGER
374	DGRWHRVAVIMG
375	LAGSCLPVFSTL
376	APVNVNTASVQIQ
377	TAGSCLRRFSTM
378	KQGKALTQRHAK
379	TAGSCLRKF
380	RYVVLPR
381	TAGSCL
382	SPYTFIDSLVLMPY
383	TAG
384	PDSGR
385	QQNLGSVNVSTG

[0192]

SEQ ID No.	序列
386	SRATAQKVSRRS
387	DPGYIGSR
388	GSLSSHLEFVGI
389	VILQQAADIAR
390	RNRLHLSMLVRP
391	KDISEKVAVYST
392	APMSGRRSPSLVLK
393	LGTIPG
394	AFGVLALWGTRV
395	TDIRVTLNRLNTF
396	IENVVTTFAPNR
397	AFSTLEGRPSAY
398	LEAEFHFTHLIM
399	TSAEAYNLLRT
400	HLIMTFKTRPA
401	LNRRYEQARNIS
402	KTWGVYRYFAYD
403	SLLSQLNNLLDQ
404	TNLRKFVKLHT
405	RDIAEIIKDI
406	KRLVTGQR
407	SHAVSS
408	GPGVVVVERQYI
409	ADTPPV
410	NEPKVLKSYYYAI
411	LRAHAVDING
412	YYAISDFAVGGR
413	DSITKYFQMSLE
414	LPFFNDRPWRRAT
415	YTALIIATDN
416	FDPELYRSTGHGGH
417	VITVKDINDN
418	TNAVGYSVYDIS
419	GLDRESYPYY
420	APVKFLGNQVLSY
421	MKVSATDADD

[0193]

SEQ ID No.	序列
422	SFSFRVDRRDTR
423	PQVTRGDVFTMP
424	TWSKVGGHLRPGIVQSG
425	KEAEREVTDLLR
426	RGDV
427	AAEPLKNIGILF
428	FALWDAIIGEL
429	VGVAPG
430	LWPLLAVLAAVA
431	PGVGV
432	VFDNFVLK
433	TSIKIRGTYSER
434	TTSWSQCSKS
435	DPETGV
436	KRSR
437	QGADTPPVG
438	SVVYGLR
439	PLDREAIKY
440	DGRGDSVAYG
441	HAVDI
442	LALERKDHSG
443	DQNDN
444	YSMKKTTMKIIPFNRLTIG
445	QDPELPDKNM
446	RGDF
447	LVVQAADLQG
448	GVYYQGGTYSKAS
449	NDDGGQFVVT
450	TAGSCLRKFSC
451	YILHVAVTN
452	CNYYSNSYSFWLASLNPER
453	TYRIWRDTAN
454	TGLSCLQRFTTM
455	GFTCECSIGFRGDGQTCYGIVFWSEV
456	HHLGGAKQAGDV
457	SCLPGFSGDGRACRDVDEC

[0194]

SEQ ID No.	序列
458	MAPRPSLAKKQFRHRNRKGYRSQRGHSRG
459	KKQKFRHRNRKGYRSQ
460	KKQKFKHRNRKGYRS
461	KKQKFRRNRKGYRSH
462	TAIPPCPHGWISLWK
463	KKQKSRHRSRKRYRS
464	KKQKSRRRSRKGYRS
465	ISRCTVC
466	ISRCQVCMKRRH
467	VSRCTVC
468	TDIPPCPQGWISLWK
469	TVKAGELEKIISRCQVMKRRH
470	TDIPSCPHGWISLWK
471	TDIPPCPAGWISLWK
472	TEIPPCPQGWISLWK
473	TDVPPCPQGWISLWK
474	RLVSYNGILFFLK
475	RLVSYSGVIFFLK
476	RLVSYNGILFFL
477	RLVSYSGIIFFLK
478	RFEQELRLVSYSGVLFFLKQ
479	RLVSYNGIIFFLK
480	DPAFKIEDPYSPRIQNLLKITNLRIKFVKL
481	TKRFEQELRLVSYSGVLFFL
482	GGRLKYSVAF
483	GGFLRYTVSYDI
484	GGFLKYTVSYDV
485	LGNKLTAFGGFLKYTVSYDIPV
486	GGYLKYTVSYDI
487	GEIFFDMRLKGDK
488	GEIYFDLRLKGDK
489	GEIYLDLRLKGDK
490	IGQPGAKGEPGEFYFDLRLKGDKGDPGFPG
491	GEVFFDMRLKGDK
492	LAGSCLPIFSTL
493	AHNQDLGLAGSCLARFSTMPFLYCNP GDIC

[0195]

SEQ ID No.	序列
494	QEKAHNQDLGLAGSCLPVFSTLPFAYCNIH
495	LAGSCLPVFSTM
496	GNKRAHGQDLGTAGSCLRRFSTMPFMFCNI
497	RAHGQDLGTAGSCLRRFSTMP
498	RKRLQVQLNIRT
499	HLVLPLQQSDVRKRLQVQLSIRTFASSGLI
500	RKRLSVQLRIRT
501	DLGTAGSCLRRFSTM
502	RNIAEIIKDI
503	TAGSCLRKFSTMRRRRRRRRRRRRR
504	FTLTGLLGTLVTMGLLT
505	APYKAWK
506	STSKTNRGDDSNWSKRVTNNKPS
507	STSKRKRGGDSNWSKRVTKKKPS
508	STSKRKRGGDSNWSKRVSKKKPS
509	STSKRKRGGDANWSKRVTKKKPS
510	PLAGSKRKRADVAWSKRGTKKKPER
511	PLAGSKRKRADVAWSKRGTKKKPERTSAARAGPSRRIR
512	STSKRKRGGDANWSKRRTTKKKPSS
513	STSKRKRGGDANWSKRRTTKKKPSSAGLKRAKSKADRPSL
514	PTTAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRT
515	PTTAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRTSAARPGTSVRRIR
516	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMR
517	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMRGSSSRPGPVRGP
518	PTTAGKRKRRTDDAAWSKRARPAGRT
519	PTTAGKRKRRTDDAAWSKRARPAGRTSAARPGTAVRRVR
520	PATAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRTSAAR
521	PATAGKRKRSDDAAWSKRARPAGRTSAARPGTSVRRIR
522	SSSLGKRKRSDGDWSKRSKSKKKPA
523	SSSLGKRKRSDGDWSKRSKSKKKPAGTPSRRAGPGRGPR
524	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMR
525	SSSLGKRKRSDGAWSKGKSKKKAMRGSSSRPGPVRGP
526	STSKRKRGGDANWNRPTTKKKPSS
527	STSKRKRGGDANWNRPTTKKKPSSAGLKKAGSKAERPSL
528	SGALKRKRSDVAWSRRRPVKKPV
529	SGALKRKRSDVAWSRRRPVKKPVRRAPPPRAGPSVRRG

[0196]

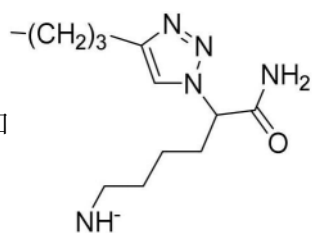
SEQ ID No.	序列
530	SGALKRKRSDEVAWSRRKPAKKPAR
531	SGALKRKRSDEVAWSRRKPAKKPARQPPPPRAGPSVRRG
532	AGALKRKRSDEVAWSRRKPAKKPAR
533	AGALKRKRSDEVAWSRRKPAKKPARAPPPRAGPSVRRGL
534	STSKRKRGGDDSNWSKRVTKKKPSSAGLKRA GSKADRPSLQIQTLOHAGTTMI TVPSGGVCDLINTYARGSDENRHTSETLT YKIAIDYHFVADAAACRYSENTGT GVMWLVDYDTPGGQAPTPQTIFSYPDTLKAWPATWKVSRELCHRFVVKRRW LFNMETDGRIGSDIPPSNASWKPCRNIYFHKFTSGLGVRTQWKNVTDGGVG AIQRGALYMVIAPGNGLTFTAHGQTRLYFKSVGNQ
535	DPQNALYYQPRVPTAAPTSGGVPWSRVGEVAILSFVALICFYLLYLWVLRDLIL VLKARQGRSTEELIFGGQAVDRSNIPNIPAPPSQGNPGPFVPGTG
536	GSQLVPPPSAFNYIESQRDEFQLSHDLTEIVLQFPSTASQITARLSRSCMKIDHC VIEYRQQVPINASGTVIVEIHDKRM TDNESLQASWTFPIRCNIDLHYFSSSFFSL KDPIPWKLYYRVSDSNVHQMT HFAKFKGKLLSSAKHSVDIPFRAPT VKILA KQFSEKDIDFWHVG YGKWERRLVKSASSSRFGLRGP IENPGESWATKSAIVT PNRNADLDIEEELLPYRELNRLGTNILDPGESASIVGIQRSQSNITMSMSQLNE LVRSTVHECIKTSCIPSTPKSLS
537	RTGVKRSYGAARGDDRRRPNVV
538	SYVKTVPNRTRTYIKLRVR
539	MYSTSNRRGRSQTQRGSHVRRRTGVKRSYGAARGDDRRRPNVVSKTQVEPR MTIQRVQENQFGPEFVLSQNSALSTFVTYPSYVKTVPNRTRTYIKLRVRFKG TLKIERGQGDTIMDGPSSNIEGVFSMVIVVDRKPHVSQS SGR LH TFE LFGARI HCHGNLSVVPALKDRYYIRHVTKRVVSLEKDTLLIDLHGTTQLSNKRYNCWA SFSDLERDCNGVYGNITKNALLVYYCWLSDAQSKASTYVSFELDYL G
540	RRRRRRRRRRRRVDYGKWERKPIRCASMSR
541	RRRRRRRRRRRRRGKWERKPIRCAS
542	KKKKKKKKKKKKKKKKKKGKWERKPIRCAS
543	RRRRRRRRRRRRVDFSHVDYGKWERKPIRCASMSRLGLRG
544	GVKRSYGAARGDDRRRPNVVAPYKAWRRRRRRRRRRRRR
545	KSVPNRTRTYIKLR LRFKGAPYKAWRRRRRRRRRRRRR
546	RTGVKRSYGAARGDDRRRPNVVRRRRRRRRRRRRRR
547	SYVKTVPNRTRTYIKGGGGRRRRRRRRRRRRRR
548	VDIPFRAPTILSKQFTEDDIDFWHVG YGKWERKLVRPASLSGRRGLRR
549	IDFWHVG YGKWERKLVRPASLSGRRGLRR
550	IDFWSVEKGETRRRLNPTPHAHSPRIAHR
551	IDFSHVGYGKWERKMIRSASISRLGLHN
552	VDFSHVG YGKWERKLIRSA TVKYGLPS
553	IDFSHVDYGKVERKLVKCESSRLGLHS
554	IDFWSVGRKAQQRKLVQGPSLIGSRSMRY
555	IDFWSVGSKPQTRRLVDGSRLIGHSSRSLRV

[0197]

SEQ ID No.	序列
556	IDFWSVERGETRRRLNPTPSAGSNRALSQR
557	VDFWSVGKPKPIRRLIQNDPGTDYDTGPKYR
558	VDFWSVEKPKPIRRLNPGPNQGPYPNTGHR
559	VDFSHVDYGKWERKLIRSASTSRYGLRS
560	VDFSHVDYGKWERKTLRSRSLSRIGLTG
561	IDFWHVGYGKWERRLVKSASSSRFGIRG
562	VDFFHVDYGRWERKHRCASMSRVGLRG
563	GTFQHVDYGKWERKPIRCQSMSRVGYRR
564	VGYGKWERKLVRPASLS
565	VEKGETRRRLNPTPHA
566	VGYGKWERKLIRSASTV
567	VEKPKPIRRLNPGPNQ
568	VDYGKWERKLIRSASTS
569	VDYGKWERKTLRSRSL
570	VGYGKWERRLVKSASSS
571	VDYGRWERKHRCASMS
572	VERPKPIRRLTPTPGC
573	PFRAPTILSKQFTEDDIDFWHVGYGKWERKLVRPASLSGRRGLRR
574	PFRAPTIVKILSKQFTDKDIDFSHVGYGKWERKMIRSASISRLGL
575	DIAFRAPTIVKILSKQFTDRDVFDFSHVGYGKWERKLIRSASTVKYGL
576	DIRFKPPTINILSKDYTADCVDVFSVEKPKPIRRLNPGPNQGPYPNTG
577	DIPFRAPTIVKIHSKQFSHRDVFDFSHVDYGKWERKTLRSRSLSRIGL
578	DIPFRAPTIVKILAKQFSEKDIDFWHVGYGKWERRLVKSASSSRFGI
579	DIPFRAPTIVKILSKQFTDKDVFDFHVDYGRWERKHRCASMSRVGL
580	DIKYKPPTIKILSKDYTADCVDVFSVERPKPIRRLTPTPGCG
581	ARTKQTARKSTGGKAPRKQLATKAARKSAPATGGVK KPHRYR PGTVA
582	SGRGKGGKG LGKGGAKRHRKVLRDNIQGITKPAI
583	GRKKRRQRRR

[0198] 如本文所使用的,术语“接头结合的细胞穿透肽”是指经修饰的肽或有助于细胞摄取RNA的其它实体,例如,通过促进货物分子从膜转移到细胞质和细胞核,其结合到允许细胞穿透肽缀合或与本文所描述的三核苷酸帽类似物连接的连接部分。本领域技术人员将理解,与细胞穿透肽结合的接头可以选自可商购获得的如生物素、3'马来酰亚胺基苯甲酸N-

羟基琥珀酰亚胺酯和



[0199] 在一些实施例中,本文所公开的细胞穿透肽可以与本文所公开的RNA帽共价连接。例如,在一些实施例中,细胞穿透肽可以掺入到与本文所公开的RNA帽连接的荧光标记中。

在一些实施例中,细胞穿透肽不与本文所公开的RNA帽共价连接。例如,在一些实施例中,提供了与一种或多种细胞穿透肽组合的包括如本文所描述的具有CAP的RNA分子的组合物。

[0200] 如本文所使用的,如本文所使用的术语“点击”或“点击化学”是指叠氮化物与炔烃之间的Huisgen环加成或1,3-偶极环加成以形成1,2,4-三唑。

[0201] 如本文所使用的,术语“酶促地掺入”意指核苷酸能够通过模板依赖性或非模板非依赖性聚合酶的作用酶促地掺入到多核苷酸链的末端,例如3'末端上,或者内部通过多核苷酸链的缺口翻译。核苷酸-5'-三磷酸是可酶促掺入地核苷酸的实例。

[0202] 如本文所使用的,术语“可酶促延伸的”或“3'可延伸的”意指能够通过酶作用附加到核苷酸或多核苷酸的核苷酸或多核苷酸。含有3'羟基的多核苷酸是可酶促延伸的多核苷酸的实例。

[0203] 如本文所使用的,术语“卤素”是指元素周期表的第7A族的非金属元素,包括氟、F、氯、Cl、溴、Br、碘、I和砹、At。卤素是单价的,容易地形成负离子并以化合物或离子的形式存在。

[0204] 如本文所使用的,术语“细胞内分子稳定性”和“细胞内稳定性”是指RNA存在于细胞中而不降解,从而导致功能丧失的能力。因此,提高细胞内稳定性是指增加RNA在细胞中存在的持续时间。作为非限制性实例,未封端RNA可以在细胞中平均存在4至6小时,而封端RNA可平均存在10至48小时,这取决于帽。

[0205] 如本文所使用的,术语“锁定核酸”(LNA)是指2'0和4'C亚甲基双环核苷酸单体之间的桥。

[0206] 如本文所使用的,术语“核碱基”是指含氮杂环部分核碱基。合适的核碱基的非限制性实例包含:腺嘌呤、胞嘧啶、鸟嘌呤、胸腺嘧啶、尿嘧啶、5-丙炔基-尿嘧啶、2-硫代-5-丙炔基-尿嘧啶、5-甲基胞嘧啶、假异胞嘧啶、2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶、2-氨基嘌呤、N9-(2-氨基-6-氯嘌呤)、N9-(2,6-二氨基嘌呤)、次黄嘌呤、N9-(7-脱氮-鸟嘌呤)、N9-(7-脱氮-8-氮杂-鸟嘌呤)和N8-(8-氮杂-7-脱氮腺嘌呤)。

[0207] 如本文所使用的,术语“核苷”是指由与核糖或其类似物的C-1'碳连接的核碱基组成的化合物。核糖或类似物可以是经取代的或未经取代的。经取代的核糖包含但不限于碳原子,优选地3'-碳原子中的一个或多个的核糖,所述核糖被如-R、-OR、-NRR或卤素(例如,氟、氯、溴或碘)的相同或不同的取代基中一个或多个取代,其中每个R基团独立地为-H、C₁-C₆烷基或C₃-C₁₄芳基。具体地,核糖是核糖、2'-脱氧核糖、2',3'-双脱氧核糖、3'-卤代核糖(如3'-氟核糖或3'-氯核糖)和3'-烷基核糖。通常,当核碱基是A或G时,核糖与核碱基的N⁹-位置连接。当核碱基是C、T或U时,戊糖与核碱基的N¹-位置连接(Kornberg和Baker,《DNA复制(DNA Replication)》,第2版,加利福尼亚州旧金山的Freeman公司(Freeman, San Francisco, Calif.), (1992))。核糖类似物的实例包含阿拉伯糖、2'-O-甲基核糖和锁定核苷类似物(例如,WO 99/14226),例如,尽管许多其它类似物也是本领域已知的。

[0208] 如本文所使用的,术语“核苷酸”是指作为单体单元或在多核苷酸内的核苷的磷酸酯。

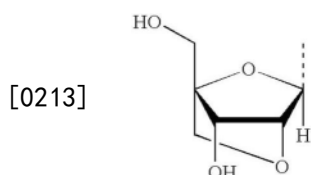
[0209] 如本文所使用的,术语“核苷酸三磷酸”是指在5'位置处具有三磷酸酯基团的核苷酸。

[0210] 如本文所使用的,本教导的核苷和/或核苷酸可以包括“天然糖”(即,-核糖、2'-脱

氧核糖等)或糖类似物。

[0211] 术语“报道基因部分”和“报道基因”可互换并且是指可检测的部分。在一些实施例中,报道基因被亲和部分特异性地结合。在一些实施例中,报道基因部分和亲和部分的相互作用提供了与报道基因部分连接的1,4-三唑-衍生的RNA的分离。实例包含但不限于生物素或亚氨基生物素和亲和素或链霉亲和素。报道基因部分的一个亚类是“表位标签”,其是指被抗体或其抗原结合片段识别和特异性地结合的标签。其它报道基因包含但不限于标签(具有亲和伴侣)、表位标签(具有抗体)和酶底物(具有酶)。报道基因部分可以允许与用于封端RNA的纯化的固体载体连接。报道基因可以是例如染料、生物素或肽。可以包括报道基因部分的生物素分子的实例包含 C_5 - C_{20} 生物素、SS-生物素、XX-生物素((6-((6-((生物素酰基)氨基)己酰基)氨基)己酸琥珀酰亚胺酯)和NHS酯。为了在本文的某些方法中使用,报道基因包含叠氮基以允许在“点击”技术中使用。

[0212] 如本文所使用的,术语“糖类似物”是指糖核糖的类似物。示例性核糖类似物包含但不限于具有多于或少于5个环原子的经取代或未经取代的呋喃糖,例如赤藓糖和己糖以及经取代或未经取代的3-6个碳无环糖。典型的经取代的呋喃糖和无环糖是其中碳原子中的一个或多个碳原子被相同或不同的-R、-OR、-NRR或卤素基团中的一个或多个取代的糖,其中每个R独立地为-H, (C_1 - C_6) 烷基或(C_1 - C_{14}) 芳基。具有5个环原子的经取代的呋喃糖的实例包含但不限于2'-脱氧核糖、2'-(C_1 - C_6) 烷基核糖、2'-(C_1 - C_6) 烷氧基核糖、2'-(C_5 - C_{14}) 芳氧基核糖、2',3'-二脱氧核糖、2',3'-二脱氢核糖、2'-脱氧-3'-卤代核糖、2'-脱氧-3'-氟核糖、2'-脱氧-3'-氯核糖、2'-脱氧-3'-氨基核糖、2'-脱氧-3'-(C_1 - C_6) 烷基核糖、2'-脱氧-3'-(C_1 - C_6) 烷氧基核糖、2'-脱氧-3'-(C_5 - C_{14}) 芳氧基核糖、3'-(C_1 - C_6) 烷基核糖-5'-三磷酸、2'-脱氧-3'-(C_1 - C_6) 烷基核糖-5'-三磷酸、2'-脱氧-3'-(C_1 - C_6) 烷氧基核糖-5'-三磷酸、2'-脱氧-3'-(C_5 - C_{14}) 乙酰氧基核糖-5'-三磷酸、2'-脱氧-3'-卤代核糖-5'-三磷酸、2'-脱氧-3'-氨基核糖-5'-三磷酸、2',3'-二脱氧核糖-5'-三磷酸或2',3'-二脱氢核糖-5'-三磷酸。另外的糖类似物还包含具有以下结构的所谓的锁定核酸(LNA):



[0214] 以及Wengel等人,WO 99/14226中所描述的那些。

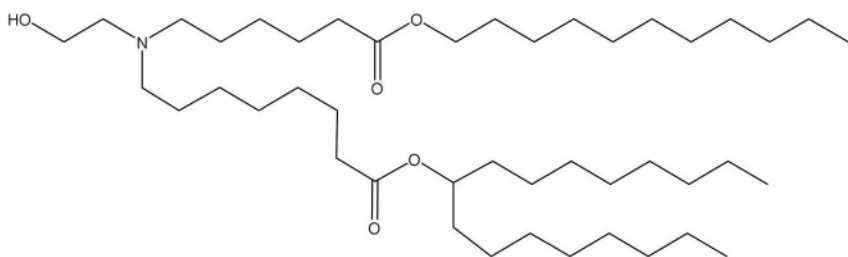
[0215] 如本文所使用的,术语“多核苷酸”、“寡核苷酸”和“核酸”可互换地使用并且是指核苷酸单体的单链和双链聚合物,包含通过核苷酸间磷酸二酯键连接的核糖核苷酸(RNA)和2'-脱氧核糖核苷酸(DNA)。多核苷酸可以完全由脱氧核糖核苷酸构成,完全由核糖核苷酸或由其嵌合混合物构成。

[0216] 如本文所使用的,术语“终止子”意指防止核苷酸随后掺入所得多核苷酸链的可酶促掺入的核苷酸,并且由此停止聚合酶介导的延伸。典型的终止子缺少3'-羟基取代基并且包含2',3'-二脱氧核糖、2',3'-二脱氢核糖和2',3'-二脱氧-3'-卤代核糖,例如,3'-脱氧-3'-氟核糖或2',3'-二脱氧-3'-氟核糖。可替代地,可以使用呋喃核糖类似物,如2',3'-双脱氧-β-D-呋喃糖基、β-D-阿拉伯呋喃糖基、3'-脱氧-β-D-阿拉伯呋喃糖基、3'-氨基-2',3'-双脱氧-β-D-呋喃糖基和2',3'-双脱氧-3'-氟-β-D-呋喃糖基(参见,例如,

(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基酸甘氨酸基-N-(1-十七烷基十八烷基)甘氨酸胺、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-烷基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L-谷氨酸胺、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L- α -谷氨酸胺、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-油烯基氨基)2-羟丙基]哌嗪、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L- α -天冬氨酸、N-[N^2 -[N^2 , N^5 -双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]- N^2 , N^5 -双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-双十八烷基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二羟基-L-谷氨酸胺、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二油烯基-L- α -谷氨酸胺、4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-肉豆蔻基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二油烯基-L- α -天冬氨酸、N-[N^2 - N^5 -双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]- N^2 , N^5 -双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-二油烯基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-油烯基氨基)丙基]哌嗪、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二棕榈基-L-谷氨酸胺、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N-二棕榈基-L- α -谷氨酸胺、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二棕榈基-L- α -天冬氨酸、N-[N^2 -[N^2 , N^5 -双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]- N^2 , N^5 -双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-二棕榈基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二肉豆蔻基-L-谷氨酸胺、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二肉豆蔻基-L- α -谷氨酸胺、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二肉豆蔻基-L- α -天冬氨酸、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-棕榈基氨基)-2-羟丙基]哌嗪、N-[N^2 -[N^2 , N^5 -双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]- N^2 , N^5 -双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酸基]-N,N-二肉豆蔻基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-肉豆蔻基氨基)丙基]哌嗪、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(3-氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二月桂酰基-L-谷氨酸胺、 N^2 -8 N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二月桂酰基-L- α -谷氨酸胺、 N^2 -[N^2 , N^5 -双(氨基丙基)-L-鸟氨酸基]-N,N-二月桂酰基-L- α -天冬氨酸、N-[N^2 -[N^2 , N^5 -双[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]- N^2 , N^5 -双[3-[(1,1-二甲基乙氧基)羰基]氨基丙基]-L-鸟氨酸基]-N-二月桂酰基-L-谷氨酸胺酰基]-L-谷氨酸、3-[N',N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-双十八碳-9-烯基丙酰胺、3-[N',N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-二棕榈基丙酰胺、3-[N',N''-双(2-叔丁氧基羰基氨基乙基)胍基]-N,N-二肉豆蔻基丙酰胺、1,4-双[(3-(3-氨基丙基)-棕榈基氨基)丙基]哌嗪、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-油烯基氨基)丙基]哌嗪、N,N-(2-羟基-3-氨基丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二羟基氨基丙烷、N,N-(2-羟基-3-氨基丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二棕榈基氨基丙烷、N,N-(2-羟基-3-氨基丙基)-N-2-羟丙基-3-N,N-二肉豆蔻基氨基丙烷、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-肉豆蔻基氨基)丙基]哌嗪、[(3-氨基丙基)-双-(2-十四烷基氧基乙基)]甲基溴化铵、[(3-氨基丙基)-双-(2-棕榈基氧基乙基)]甲基溴化铵、油酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、2-二癸酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、棕榈酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、1,2-二棕榈酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、肉豆蔻酰基-2-羟基-3-N,N-二甲氨基丙烷、1,2-二肉豆蔻酰基-1-N,N-二甲氨基丙烷、(3-氨基-丙基)->4-(3-氨基-丙氨基)-4-十四烷基氨基甲酰基-丁基氨基甲酸胆固醇酯、(3-氨基-丙基)->4-(3-氨基-丙氨基)-4-氨基甲酰基丁基氨基甲酸胆固醇酯、(3-氨基-丙基)->4-(3-氨基-丙氨基)-4-(2-二甲基氨基-乙基氨基甲酰基)-丁基氨基甲酸胆固醇酯、精胺-5-羧基甘

氨酸(N'-硬脂基-N'-油烯基)酰胺四三氟乙酸盐、精胺-5-羧基甘氨酸(N'-硬脂基-N'-反油烯基)酰胺四三氟乙酸盐、胍丁胺基羧基胆固醇乙酸盐、精胺-5-羧基-β-丙氨酸胆固醇酯四三氟乙酸盐、2,6-二氨基己酰基β-丙氨酸胆固醇酯双三氟乙酸盐、2,4-二氨基丁酰基β-丙氨酸胆固醇酯双三氟乙酸盐、N,N-双(3-氨基丙基)-3-氨基丙酰基β-丙氨酸胆固醇酯三三氟乙酸盐、[N,N-双(2-羟乙基)-2-氨基]氨基羧基胆固醇酯、硬脂基肉碱酯、棕榈基肉碱酯、肉豆蔻基肉碱酯、硬脂基硬脂酰基肉碱酯氯化物盐、L-硬脂基硬脂酰基肉碱酯、硬脂基油酰基肉碱酯氯化物、棕榈基棕榈酰基肉碱酯氯化物、肉豆蔻基肉豆蔻酰基肉碱酯氯化物、L-肉豆蔻基肉豆蔻酰基肉碱酯氯化物、1,4-双[(3-(3-氨基-2-羟丙基)-棕榈基氨基)丙基]哌嗪、N-(3-氨基丙基)-N,N'-双-(十二烷基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N,N'-双-(油烯基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N,N'-双-(棕榈基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N,N'-双-(肉豆蔻基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-十二烷基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-油烯基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-棕榈基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物、N-(3-氨基丙基)-N'-甲基-N,N'-(双-2-肉豆蔻基氧基乙基)-哌嗪鎓溴化物,可用于所述组合物和方法中的磷脂可选自由以下组成的非限制性组:1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DSPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(DOPE)、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DLPC)、1,2-二肉豆蔻酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DMPC)、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DOPC)、1,2-二棕榈酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DPPC)、1,2-双十一烷酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(DUPC)、1-棕榈酰基-2-油酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(POPC)、1,2-双-0-十八烯基-sn-甘油-3-磷酸胆碱(18:0二醚PC)、1-油酰基-2-胆固醇基半琥珀酰基-sa-甘油-3-磷酸胆碱(OChemsPC)、1-十六烷基-sa-甘油-3-磷酸胆碱(C16 Lyso PC)、1,2-二亚油烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸胆碱、1,2-二植烷酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺(ME 16.0 PE)、1,2-二硬脂酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二亚油烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二花生四烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-双二十二碳六烯酰基-sn-甘油-3-磷酸乙醇胺、1,2-二油酰基-sn-甘油-3-磷酸-rac-(1-甘油)钠盐(DOPG)、二棕榈酰基磷脂酰甘油(DPPG)、棕榈酰基油酰基磷脂酰乙醇胺(POPE)、二硬脂酰基-磷脂酰基-乙醇胺(DSPE)、二棕榈酰基磷脂酰乙醇胺(DPPE)、二肉豆蔻酰基磷脂酰乙醇胺(DMPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰乙醇胺(SOPE)、1-硬脂酰基-2-油酰基-磷脂酰胆碱(SOPC)、鞘磷脂、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酸、棕榈酰基油酰基磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰胆碱、溶血磷脂酰乙醇胺(LPE),

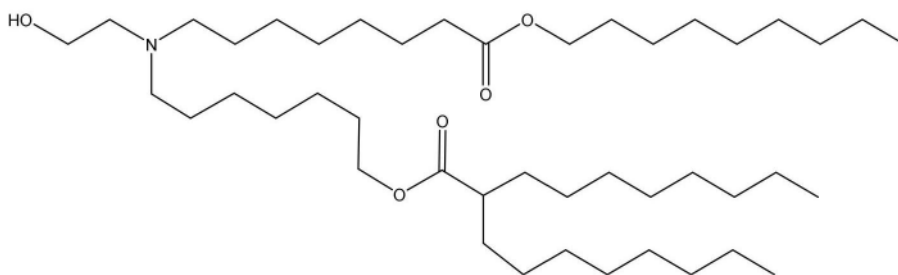
[0220] 化合物1



[0221]

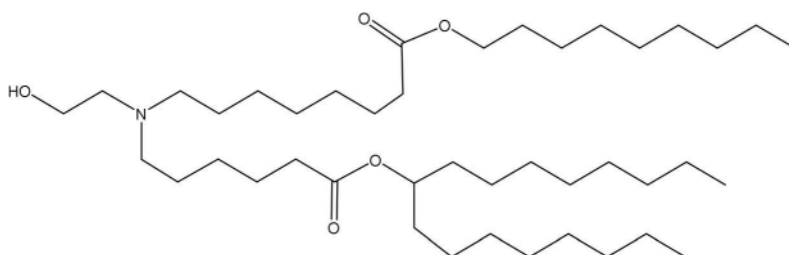
[0222] 化合物2

[0223]



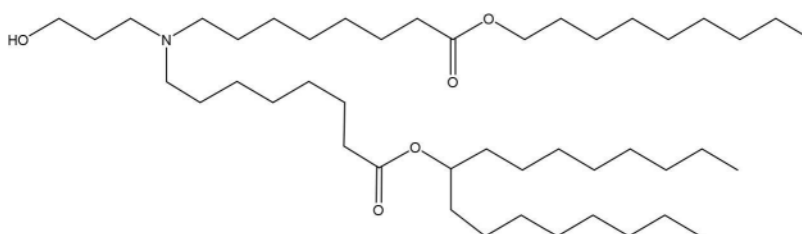
[0224] 化合物3

[0225]



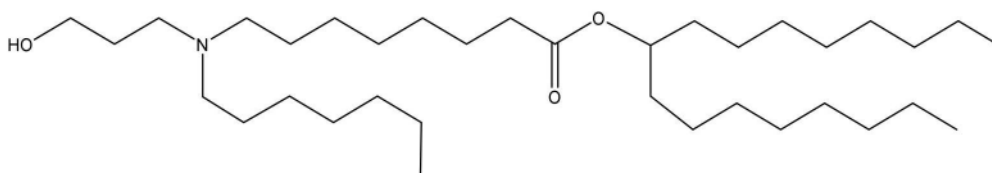
[0226] 化合物4

[0227]



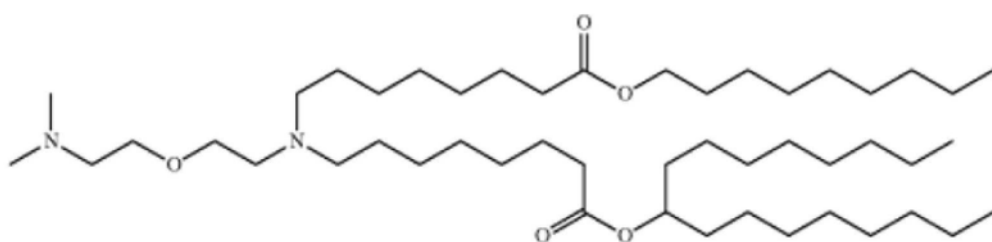
[0228] 化合物5

[0229]



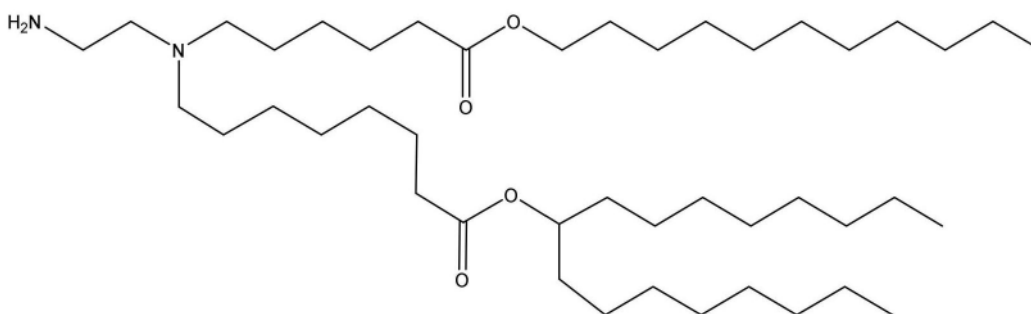
[0230] 化合物6

[0231]

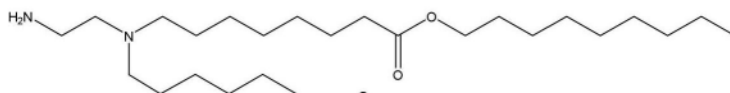


[0232] 化合物7

[0233]



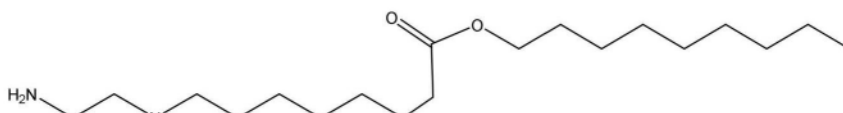
[0234] 化合物8



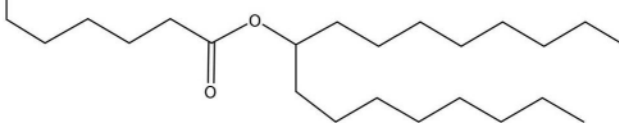
[0235]



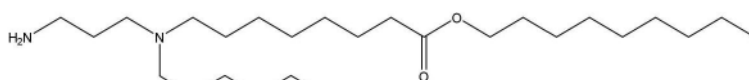
[0236] 化合物9



[0237]



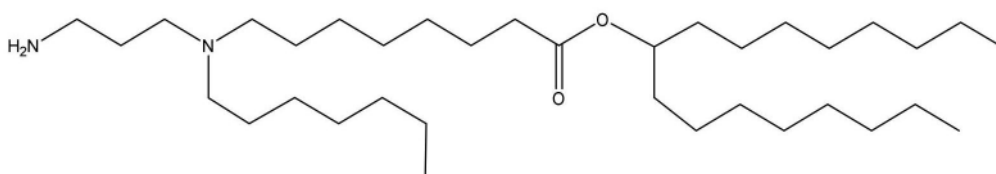
[0238] 化合物10



[0239]

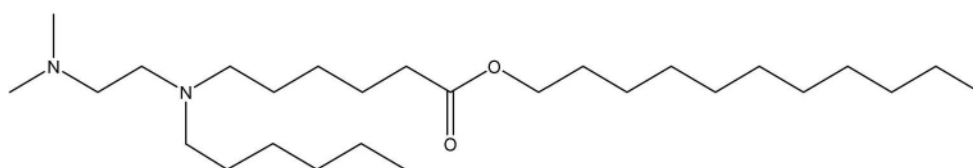


[0240] 化合物11

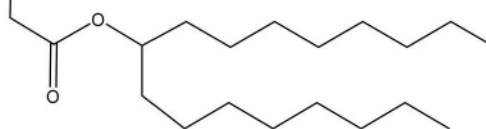


[0241]

[0242] 化合物12

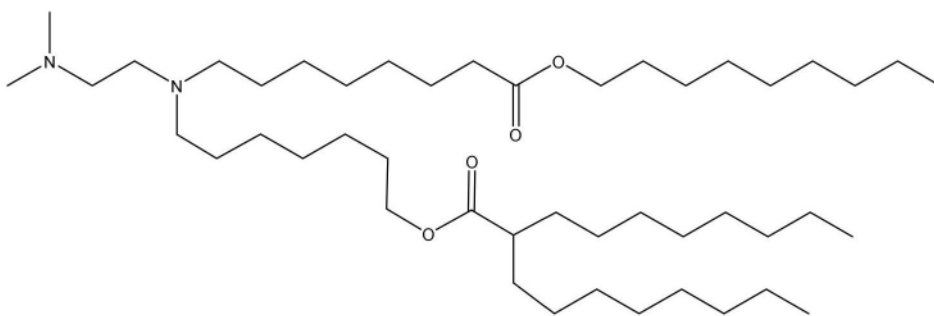


[0243]



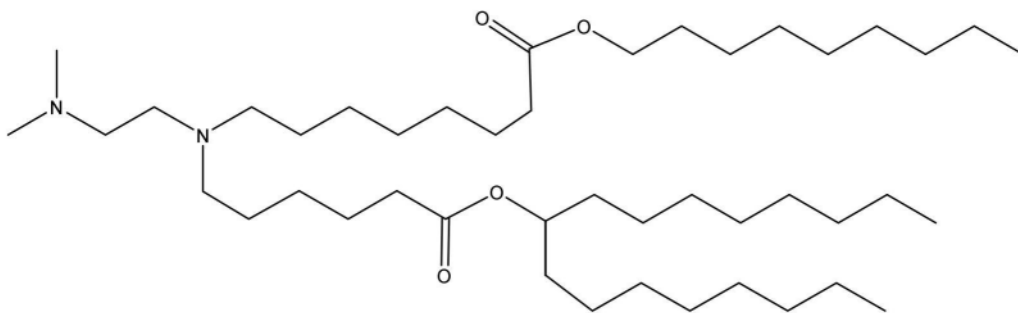
[0244] 化合物13

[0245]



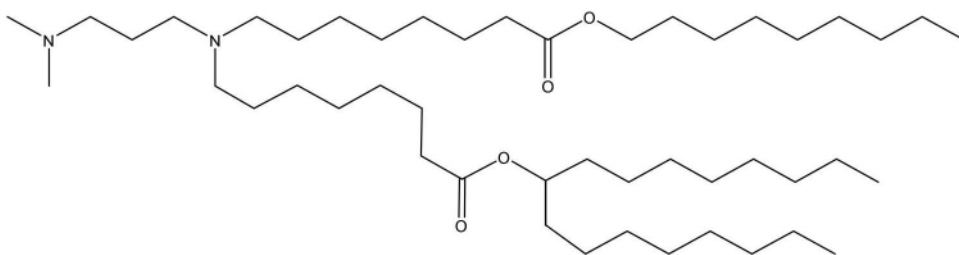
[0246] 化合物14

[0247]



[0248] 化合物15

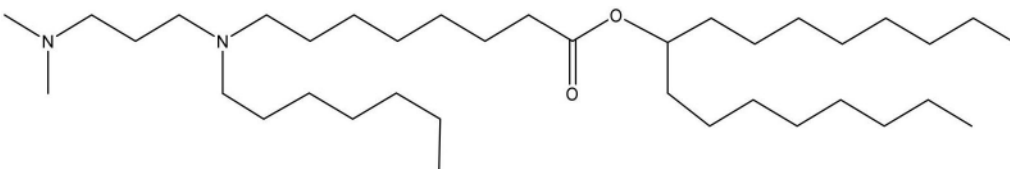
[0249]



以及

[0250] 化合物16

[0251]



[0252] 在一些实施例中,如本文所描述的RNA递送剂可以包含一种或多种中性或不带电荷的脂质。可用于本文所描述的实施例的中性脂质包含例如胆固醇、二油酰基磷脂酰乙醇胺(DOPE)、二油酰基磷脂酰胆碱(DOPC)和二植烷酰基磷脂酰乙醇胺(DDhPE) 粪甾醇、谷甾醇、麦角甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、菜子甾醇、番茄碱、番茄苷、熊果酸、 α -生育酚或其组合。

[0253] 如本文所描述的RNA递送剂可以包含抑制脂质/RNA颗粒聚集的一种或多种试剂。抑制脂质/RNA颗粒聚集的示例性试剂包含PEG脂质、或PEG化脂质、或聚甘油脂质,例如,如Fiedl等人,(2020)《纳米医学(Nanomedicine)》15(19),1829-1841中所描述的。

[0254] 如本文所描述的RNA递送剂可以包含一种或多种PEG脂质。如本文所使用的,“PEG脂质”或“PEG化脂质”是指包括聚乙二醇组分的脂质。PEG脂质可以选自由以下组成的非限制性组:经PEG修饰的磷脂酰乙醇胺、经PEG修饰的磷脂酸、经PEG修饰的神经酰胺(PEG-CER)、经PEG修饰的二烷基胺、经PEG修饰的二酰基甘油(PEG-DEG)、经PEG修饰的二烷基甘油和其混合物。例如,PEG脂质可以是PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPC或

PEG-DSPE脂质。

[0255] 可以将RNA转染到细胞中以便在细胞内翻译。转染方法是本领域技术人员已知的并且包含显微注射、电穿孔、转染、化学处理等。在一些方面，本文所提供的RNA组合物被递送至体外细胞。在一些方面，本文所提供的RNA组合物可以用于将mRNA离体递送至细胞。在其它方面，本文所提供的RNA组合物可以用于将mRNA体内递送至细胞，例如，在mRNA疫苗等的情况下。用于体内翻译的细胞包含期望表达所关注的蛋白质的任何患者细胞。可用于本文所公开的实施例的细胞的非限制性实例包含免疫细胞（例如，T细胞、B细胞、NK细胞、树突细胞、巨噬细胞等）、肝细胞、肺细胞、胰腺细胞、骨髓细胞、组织培养细胞、生殖细胞、干细胞如诱导多能干细胞（iPSC）、人胚胎干细胞（hESC）、间充质干细胞（MSC）、脂肪源性干细胞（ADSC）等。

[0256] 适于使用的染料是本领域的技术人员已知的并且包含但不限于香豆素、花青、苯并呋喃、喹啉、喹啉酮、吲哚、苯并唑、硼聚吲哚得辛以及包含荧光素、罗丹明和螺环葱的氧杂葱以及RICHARD P. HAUGLAND, 荧光探针和研究化学品的分子探针手册 (MOLECULAR PROBES HANDBOOK OF FLUORESCENT PROBES AND RESEARCH CHEMICALS) (第11版, 2010年1月) 中所描述的其它染料。

[0257] 本文所使用的荧光染料包含但不限于苌（包含美国专利第5,132,432号和第8,039,642号中所公开的对应的衍生化合物中的任一种）、葱、蔡、吡啶、芪、吲哚或苯并吲哚、噻唑或苯并噻唑、噻唑或苯并噻唑、4-氨基-7-硝基苯并-2-氧杂-1,3-二唑（NBD）、花青（包含下述文献中的任何对应的化合物：美国专利第6,977,305号；第6,974,873号；第6,664,047号；第4,981,977号；第5,268,486号；第5,569,587号；第5,569,766号；第5,486,616号；第5,627,027号；第5,808,044号；第5,877,310号；第6,002,003号；第6,004,536号；第6,008,373号；第6,043,025号；第6,127,134号；第6,130,094号；第6,133,445号；第7,446,202号；第7,598,390号；第7,776,529号；PCT国际公开第WO 02/26891号、第WO 97/40104号、第WO 99/51702号、第WO 01/21624号、第WO 2018/085449号；以及欧洲专利申请公开第1 065 250 A1号）、苯并花青（包含9,249,307；9,751,868；10,000,467；10,053,447；10,125,120；10,351,551；10,526,317和US2017/0158858中任何对应的化合物）、碳苯乙烯基（carbostyryl）、卟啉、水杨酸盐、邻氨基苯甲酸盐、萘、二萘嵌苯、吡啶、喹啉、硼聚苯并氮杂吲哚（borapolyazaindacene）（包含美国专利第4,774,339号；第5,187,288号；第5,248,782号；第5,274,113号以及第5,433,896号中公开的任何对应的化合物）、咕吨（包含美国专利第6,162,931号；第6,130,101号；第6,229,055号；第6,339,392号；第5,451,343号以及第6,716,979中公开的任何对应的化合物）、噻嗪（包含美国专利第4,714,763号中公开的任何对应的化合物）或苯并噻嗪、卡巴嗪（包含美国专利第4,810,636号中公开的任何对应的化合物）、非那烯酮（phenalenone）、香豆素（包含美国专利第5,696,157号；第5,459,276号；第5,501,980号以及第5,830,912号中公开的对应的化合物）、苯并呋喃（包含美国专利第4,603,209号和第4,849,362号中公开的对应的化合物）和苯并非那烯酮（包含美国专利第4,812,409号中公开的任何对应的化合物）和其衍生物。如本文所使用的，噻嗪包含试卤灵（resomfins）（包含美国专利第5,242,805号中公开的任何对应的化合物）、氨基噻嗪酮、二氨基噻嗪和其经苯并取代的类似物。

[0258] 当染料是咕吨时，染料任选地是荧光素、对甲氨基酚（包含美国专利第5,227,487

号和第5,442,045号中公开的任何对应的化合物)或罗丹明(包含美国专利第5,798,276号;第5,846,737号;第6,562,632号;第7,256,292号;第7,985,602号;第8,729,267号;第9,040,674号;第9,315,859号;第9,745,336号;第9,783,560号;第9,790,544号;第10,131,936号中的任何对应的化合物)。

[0259] 典型地,荧光染料含有任选地被各种取代基取代一次或多个的一个或多个芳香族环或杂芳香族环,所述取代基包含但不限于卤素、硝基、氰基、烷基、全氟烷基、烷氧基、烯基、炔基、环烷基、芳基烷基、酰基、芳基或杂芳基环系统、苯并或本领域已知的荧光染料上典型存在的其它取代基。

[0260] 帽/帽类似物和启动子

[0261] 本文提供了组合物和方法,其中(1) RNA帽和帽类似物以及(2) 启动子起作用导致产生封端RNA,如信使RNA(mRNA)。在一些情况下,这些组合物和方法涉及以允许产生封端RNA的方式与特异性启动子(例如,经修饰的天然存在的启动子)相互作用的mRNA帽或帽类似物。

[0262] 在一些情况下,本文所提供的组合物和方法将被设计成以导致具有高封端效率的高产率产生mRNA的方式相互作用。如本文所使用的,mRNA的高产率产生是指3mg/ml(60μg/20μl)或更高的RNA。如本文所使用的,RNA封端效率是指含有帽的组合物中存在的RNA的百分比。例如,如果RNA分子的未封端群体经受将帽或帽类似物添加到这些分子中的过程,则封端效率将由含有帽的所得组合物中RNA分子的百分比确定。类似地,当通过转录形成封端mRNA时,封端效率也将由含有帽的所得组合物中RNA分子的百分比确定。高封端效率是指RNA群体的产生,其中与未封端RNA分子(例如,靶RNA分子)相比,封端RNA分子(例如,靶RNA分子)的百分比大于或等于70%(例如,约75%至约99%、约80%至约99%、约85%至约99%、约90%至约99%、约95%至约99%、约75%至约95%、约75%至约90%、约80%至约95%、约85%至约95%、约75%至约100%、约80%至约100%、约90%至约100%、约95%至约100%等)。术语“靶RNA分子”是指为封端过程的所期望对象的RNA分子。例如,如果使用偶联的转录/翻译系统,那么针对翻译而存在的核糖体RNA分子将不会被视为“靶RNA分子”。换句话说,封端效率与旨在封端的RNA分子(例如,编码特异性蛋白质的RNA分子)相关,并且不包含反应混合物中的其它RNA分子。

[0263] 图15示出了示例性7-甲基鸟苷三核苷酸帽类似物的结构,其在此处所示的许多情况下可以充当封端引物。此盖帽类似物示意图指示碱基可以位于B₁和B₂处。此帽类似物的三个碱基用圆圈中的数字1、2和3标记。当然,任何数量的帽类似物变化可以存在于组合物中并用于本文所示的方法中。

[0264] 帽和帽类似物在核苷酸序列方面可能有很大差异。为了说明的目的,使用图15中所示的帽类似物结构,用带圆圈的数字1标记的第一个碱基将通常是G。用带圆圈的数字2和3标记的其它两个碱基将通常与期望转录的反应混合物中的核酸分子的起始位点处的一个或多个碱基互补。进一步地,起始位点可以与图16中标出的位置不同。

[0265] 一个示例性封端引物的核苷酸序列在图19中示出为GAG。此封端引物的AG部分(帽类似物位置2和3)与所示出的模板链的起始区的位置-1和+1互补。在此情况下,起始区的位置-1和+1在本文中称为起始位点。其互补的示例性封端引物核苷酸序列和起始位点在表3中所示。

[0266] 表 3: 示例性帽/起始位点规范

[0267]	编号	封端引物序列	封端引物类型	起始位点	启动子位置 (图 16)	
	1	GAG	三聚体	TC	-1 至+1	+2 至+3
	2	GAU	三聚体	TA	-1 至+1	+2 至+3
	3	GAGG	四聚体	TCC	-1 至+2	+2 至+4
	4	GAGGG	五聚体	TCCC	-1 至+3	+2 至+5
	5	GAGGGU	六聚体	TCCCA	-1 至+4	+2 至+6
	6	GGG	三聚体	CC	+1 至+2	+2 至+3
	7	GGGG	四聚体	CCC	+1 至+3	+2 至+5
	8	GAA	三聚体	TT	-1 至+1	+2 至+3
	9	GGA	三聚体	CT	-1 至+1	+2 至+3

[0268] 可以包含在组合物中并且用于本文所示的方法中的RNA帽和帽类似物包含本文中所示的那些,并且具体地包含可商购获得的三聚体帽和帽类似物,如TriLink生物技术公司(TriLink Biotechnologies)(加利福尼亚州圣地亚哥(San Diego,CA))所出售的三聚体帽和帽类似物(例如,**CLEANCAP®** Reagent GG,目录号N-7133;**CLEANCAP®**试剂AU,目录号N-7114;**CLEANCAP®**试剂GG(3'OMe),目录号N-7433;**CLEANCAP®**试剂AG(3'OMe),目录号N-7413;以及**CLEANCAP®**试剂AG,目录号N-7113)。

[0269] 如在表3中所示出的,含有多于三个核苷酸的封端引物可以用于实施本文所示的主题中。此类帽和帽类似物可以含有约三个至约二十个碱基(例如,约三个至约十九个、约三个至约十八个、约三个至约十五个、约三个至约十二个、约三个至约十个、约三个至约八个、约三个至约六个、约三个至约四个、约四个至约十个、约四个至约八个等)。进一步地,此类帽和帽类似物可以与启动子起始位点的模板链具有序列互补性。

[0270] 图16示出了T7、T3、SP6和K11噬菌体的四种噬菌体启动子的比较。图16中所示的每个噬菌体启动子的长度为19个核苷酸并且包含在位置-4至+6处的十个核苷酸起始区。核苷酸+1至+6在本文中称为转录起始区,其中起始通常在位置+1处开始。在噬菌体启动子中,+1位置保守为G,并且位置+2至+5保守为嘌呤(A和G)。因此,在这些位置处通常找不到嘧啶(T和C)。进一步地,图16仅示出了从位置-1至+5存在的嘌呤碱基。进一步地,示出含有在位置+6处嘌呤(即C)的唯一启动子是K11启动子。

[0271] 启动子位置-5至-12与位于蛋白质的羧基末端附近的T7 RNA聚合酶结构域相互作用。据信富含AT的区(位置-17至-13)与位于蛋白质的氨基末端附近的T7 RNAP结构域相互作用。

[0272] 图17示出了被设计成在转录起始区或其附近具有序列互补性的三个不同的帽。CAP1是与转录起始区的+1位置具有序列互补性的二核苷酸帽。CAP2是与转录起始区的-1和+1位置具有序列互补性的三核苷酸帽。CAP3是与转录起始区的+1和+2位置具有序列互补性的三核苷酸帽。

[0273] Ishikawa等人,“在5'末端处具有不同甲基化腺苷的真核mRNA的制备以及甲基在翻译中的作用(Preparation of eukaryotic mRNA having differently methylated adenosine at the 5'-terminus and the effect of the methyl group in translation)”,核酸研讨会系列第53期,第129130页牛津大学出版社(Oxford University Press)(2009),进行了一项使用类似于图17中所示出的CAP2的若干种不同的mRNA帽的研

究,并表明这些帽可以用在模板位置+1和+2处的2'-脱氧胞苷残基起始模板上的转录("CC"模板;核酸研讨会系列第53期:129(2009))。作者指出,"与使用 $m^7G5'pppG$ 的情况不同的结果可能是由于 $m^7G5'pppN1pG$ 中的另外的腺苷(N1)与-1位置处的T7启动子中的2'-脱氧胸苷之间的碱基配对所致。"

[0274] 图18类似于图17,但起始区的+1位置处的碱基对已从G/C更改为A/T。同样地,CAP4、CAP5和CAP2位于其同源互补杂交起始序列之上。

[0275] 图19类似于图17和18,但其仅示出了单个mRNA帽,CAP2,并且其在位置-1和+1处的同源互补杂交起始序列之上。进一步地,起始区的结构使得与起始区杂交的帽的两个碱基均不与位置-2和+2处的直接侧翼碱基互补。

[0276] 许多启动子和经修饰的启动子可以存在于组合物中并用于本文所提供的方法中。使用图16的示意图作为参考,存在于组合物中并且用于本所文提供的方法中的启动子可以是野生型启动子或者可以以某种方式被修饰。此类修饰包含(1)5'和3'截短和/或(2)内部取代和/或缺失。

[0277] 当期望在-1或+1位置处进行转录起始时,可以设计启动子以促进此类起始。例如,当三核苷酸封端引物用于在-1位置处起始时,则可以使用具有以下非模板链核苷酸序列的启动子:TATY₁Y₂Z。在此情况下,Y₁在-1位置处,Y₂在+1位置处,并且Z在+2位置处,即"相邻"起始位点的+1端。"相邻"意指碱基位于起始位点之前和/或之后作为第一个碱基。进一步地,当三核苷酸封端引物用于在+1位置处起始时,则可以使用具有以下非模板核苷酸序列的启动子:TATAY₁Y₂Z。在这些情况下,Y₁和Y₂与三核苷酸封端引物的第二个和第三个碱基相同。因此,模板链将在对应于Y₁和Y₂的位置处含有与三核苷酸封端引物的碱基互补的碱基。进一步地,Z是转录阻断核苷酸,其碱基可以独立地是A、T或C,以及经化学修饰的核苷酸。

[0278] 作为实例,当GAG引物用于在-1位置处起始时,合适的启动子包含包括以下核苷酸序列的启动子:(1)5'-TATAGA-3';(2)5'-TATAGT-3';以及(3)5'-TATAGC-3'。

[0279] 当期望在+2位置处进行转录起始时,也可以设计启动子以促进此类起始。例如,当三核苷酸封端引物用于起始时,则可以使用具有以下非模板链核苷酸序列的启动子:TATAX₁Y₁Y₂X₂,其中Y₁和Y₂(位于位置+2和+3处)与三核苷酸封端引物的第二个和第三个碱基相同。进一步地,X₁和X₂是转录阻断核苷酸(位于位置+1和+4处),其碱基可以独立地为A、T或C,或经化学修饰的核苷酸。在此情况下,Y₁在+2位置处,Y₂在+3位置处,并且在位置+1和+4处的X₁和X₂被称为与+2/+3起始位点的每一端"相邻"。进一步地,在一些情况下,X₁可以是转录阻断核苷酸,而X₂不是转录阻断核苷酸。

[0280] 作为实例,当GAG引物用于在+2位置进行转录起始时,合适的启动子包含包括以下核苷酸序列的启动子:(1)5'-TATATAGA-3';(2)5'-TATATAGT-3';(3)5'-TATATAGC-3';(4)5'-TATA AAGA-3';(5)5'-TATA AAGT-3';(6)5'-TATA CAGC-3';以及(7)5'-TATA CAGA-3'。

[0281] 本文提供了组合物以及使用此类组合物的方法,用于产生其中转录起始发生在天然+1转录起始位置以外的位置处的RNA。例如,起始可以发生在-2/-1、-1/+1、+2/+3、-1/+1/+2、-1/+1/+2/+3或+2/+3/+4位置处。在许多情况下,碱基A、T或C可以位于与起始位点的一个或两个末端相邻的一个或两个位置。进一步地,其它转录起始阻断核苷酸可以位于相同位置。

[0282] 同样地,本文提供了组合物,以及使用此类组合物的方法,所述组合物包括包含更多个核苷酸中的三个核苷酸(例如,约三个至约十个、约三个至约八个、约三个至约七个、约三个至约五个、约三个至约四个、约四个至约八个等核苷酸)的多聚体封端引物和包括其中模板链与封端引物的碱基互补的转录起始位点的启动子。在许多情况下,封端引物将被设计成与位于+1/+2位置以外的位置或除+1/+2位置之外的转录起始位点杂交。在许多另外的情况下,碱基A、T或C将位于与起始位点相邻的一个或两个位置(例如,当使用+2/+3起始位点时,在位置+1和+4)处。本文进一步提供了组合物以及使用此类组合物的方法,所述组合物包括三聚体帽和包括+1/+2转录起始位点的启动子,其中位置+3处的碱基是A、T或C。

[0283] 本文进一步提供了组合物,以及使用此类组合物的方法,用于使用长度大于三个核苷酸的多聚体封端引物进行转录起始。示例性四聚体封端引物的引物具有核苷酸序列GAGG。当此封端引物用于在+1/+2+3位置处起始转录时,用于转录起始的启动子可以包括以下核苷酸序列之一:(1) 5'-TATAAGGA-3'; (2) 5'-TATAAGGT-3'; (3) 5'-TATAAGGC-3'; (4) 5'-TATA GAGGT-3'; (5) 5'-TATA GAGGA-3'; 以及 (6) 5'-TATA GAGGC-3'。

[0284] 在一些方面,本文提供了侧接转录起始阻断核苷酸的含有转录起始位点的启动子。“转录起始阻断核苷酸”是在其所在位置处对于转录起始而言不是优选的核苷酸。例如,关于T7 RNA聚合酶启动子,当位于+2位置处时,由序列AG进行,并且当GAG封端引物用于RNA封端时,非模板链中的碱基胸腺嘧啶可以用于提高封端效率。在此情况下,+2位置处的胸苷将是转录起始阻断核苷酸。

[0285] 转录起始阻断核苷酸可以是不利于转录起始但不显著影响所期望起始位点处的转录起始的任何核苷酸。转录起始阻断核苷酸与启动子、封端引物和所使用的反应条件一起发挥作用。在一些情况下,转录起始阻断核苷酸可以是脱氧胸苷、胸苷、胞苷、腺苷、鸟苷和/或尿苷。转录起始阻断核苷酸也可以被化学修饰。进一步地,此类化学修饰可以是碱基、糖、磷酸键或这些的组合。

[0286] 转录起始阻断核苷酸的使用可以提高封端效率至少20% (例如,约20%至约200%、约20%至约180%、约20%至约150%、约20%至约120%、约20%至约100%、约20%至约80%、约20%至约60%、约20%至约40%、约30%至约100%、约40%至约90%、约50%至约150%、约30%至约60%)。用于测量提高的封端效率的一种示例性测定是通过比较两种不同条件下的封端效率。在这些示例性条件下,GAG封端引物用于产生具有两种不同启动子的封端mRNA。一个启动子的非模板链包括核苷酸序列TATA AGG,并且另一个启动子包括核苷酸序列TATA AGT,不同之处在于在+2位置处存在T。

[0287] 转录起始阻断核苷酸可以译多种不同的方式使用。沿着这些路线,转录起始阻断核苷酸的位置和数量可能会有所不同。例如,多于一个(例如,一个、两个、三个等)转录起始阻断核苷酸可以与转录起始位点的一个或两个末端相邻。一种示例性启动子序列如下:5'-TATA TAGTT-3',其中AG是起始位点。在此情况下,一个转录起始阻断核苷酸与起始位点的5'端相邻,并且两个转录起始阻断核苷酸与起始位点的3'端相邻。

[0288] 转录反应混合物

[0289] 除了RNA分子和启动子的帽和帽类似物之外,可以影响封端mRNA产率和封端效率的变量包含RNA生产过程(例如,mRNA生产过程)中使用的反应混合物的组合物。

[0290] 通过使用封端引物产生封端mRNA的一些现有方法使用试剂混合物,其中存在的

GTP量低于帽和其它三种NTP的量。这是因为如果高浓度的GTP与在+1位置处用G起始转录的二聚体帽一起使用,那么GTP会有效地与二聚体帽竞争,以便在接近K_d(2mM)的NTP浓度下从+1核苷酸起始,从而产生大部分以pppG开始的RNA。虽然降低GTP浓度会导致更高的封端效率,但也会导致更低的封端mRNA产率。本文提供了用于产生具有高产率和高封端效率的封端RNA分子的组合物和方法。

[0291] 本文提供的一些方面涉及有助于产生mRNA群体的IVT反应混合物,其中存在的高百分比的RNA分子被封端(高封端效率)。在一些方面,本文所示的IVT反应混合物和方法可以被设计成导致RNA的高产率产生。在另外的方面,可以设计本文所示的IVT反应混合物和方法以导致RNA的高封端效率和高产率产生。

[0292] 可用于导致RNA的高封端效率和高产率产生的反应混合物可以包括经化学修饰的RNA组分,所述经化学修饰的RNA组分被设计用于例如增强mRNA的产生和/或稳定反应混合物中存在的RNA和/或增加翻译或降低免疫原性。

[0293] IVT反应混合物通常包含以下组分:(1)一种或多种RNA聚合酶;(2)一种或多种帽(例如,一种或多种封端引物);(3)所有四种标准核苷酸三磷酸(即GTP、ATP、CTP和UTP);以及(4)一种或多种核酸模板(例如,一种或多种DNA模板,一种或多种RNA模板,一种或多种DNA模板和一种或多种RNA模板的组合等)。

[0294] 本文所示方法中使用的IVT反应混合物还可以含有一种或多种以下组分:(1)一种或多种缓冲液(例如,磷酸盐、组氨酸、柠檬酸盐、马来酸盐、酒石酸盐、乙酸盐、三(羟甲基)-氨基甲烷(tris)和碳酸氢盐等);(2)一种或多种二价金属离子(例如,Ca²⁺、Mg²⁺、Mn²⁺、Co²⁺、Ni²⁺等);(3)一种或者多种经化学修饰的核苷酸三磷酸(例如,假尿苷(ψ)三磷酸、1-甲基假尿苷(m¹ψ)三磷酸、5-甲氧基尿苷(m⁵U)三磷酸、5-甲基胞苷(m⁵C)三磷酸、α-硫代-鸟苷三磷酸、α-硫代-腺苷三磷酸等);(4)一种或多种多胺(例如,亚精胺、精胺、三(2-氨基乙基)胺、二亚乙基三胺等);(5)一种或者多种还原剂(例如,DTT(2,3-二羟基丁烷-1,4-二硫醇/也称为“二硫苏糖醇”)、DTE(2,3-二羟基丁烷-1,4-二硫醇)、巯基乙酸盐、半胱氨酸、亚硫酸盐、亚硫酸氢盐、硫化物、二硫化物、TCEP(三(2-羧乙基)膦)、2-巯基乙醇等);(6)一种或多种非-离子型去污剂(例如,辛基苯氧基聚乙氧基乙醇(诺乃洗涤剂(nonidet)P-40);聚氧乙烯乙二醇山梨糖醇烷基酯,如聚山梨醇酯20或聚山梨醇酯80;聚乙二醇和聚丙二醇的嵌段共聚物(泊洛沙姆(Poloxamers)),如泊洛沙姆407;聚乙氧基化牛脂胺(POEA)盐;壬苯醇醚(nonoxynols),如壬苯醇醚-9;曲通(Triton)X-100;吐温80等);(7)一种或多种拥挤剂(例如,聚乙二醇、葡聚糖和菲可(ficoll)等);和/或(8)一种或多种RNA酶抑制剂(例如,一种或多种氧钒根核糖核苷复合物(VRC)、一种或多种核苷酸类似物、SUPERASE-IN™(赛默飞世尔科技公司(Thermo Fisher Scientific),目录号AM2696)、RNASEOUT™(赛默飞世尔科技公司,目录号10777019)、无机焦磷酸酶(例如,赛默飞世尔科技公司,目录号EF0221)等)。

[0295] IVT反应混合物中存在的核苷三磷酸和帽类似物的浓度可能会有所不同。在一些实施例中,NTP和帽类似物以等摩尔浓度存在于反应中。在一些实施例中,反应中帽类似物(例如,三核苷酸帽)与核苷三磷酸的摩尔比大于1:1。例如,反应中帽类似物与任一种核苷三磷酸(例如,ATP)的摩尔比可以为约1.1:1至约25:1、约2:1至约25:1、约3:1至约25:1、约5:1至约25:1、约1.1:1至约15:1、约2:1至约15:1、约4:1至约15:1、约6:1至约15:1、约8:1至约15:1、约1.1:1至约10:1、约2:1至约10:1、约3:1至约10:1、约4:1至约10:1或约2:1至约6:

1.在许多情况下,反应中帽类似物与任一种核苷三磷酸(例如,ATP)的摩尔比可以为约1:1至约10:1(例如,约1.5:1至约8:1、约2:1至约8:1、约2:1至约6:1、约2:1至约5:1、约1.5:1至约5:1、约2:1至约4:1等)。

[0296] 在一些实施例中,反应中帽类似物(例如,三核苷酸帽)与任一种核苷三磷酸的摩尔比小于1:1。例如,反应中帽类似物(例如,三核苷酸帽)与核苷三磷酸的摩尔比可以为约1:1.1至约1:25、约1:2至约1:25、约1:4至约1:25、约1:5至约1:25、约1:1.1至约1:10、约1:2至约1:10、约1:4至约1:10、约1:2至约1:6或约1:3至约1:6。

[0297] IVT反应中存在的单独的NTP(例如,“标准”NTP(ATP、UTP、CTP、GTP))的浓度也可能不同。进一步地,此类差异可能是由于如帽核苷酸序列、起始位点序列和/或“非标准”NTP(例如,假尿苷(ψ)三磷酸、1-甲基假尿苷(m ψ)三磷酸、5-甲氧基尿苷(m ^{5} U)三磷酸等)的存在等因素造成的。

[0298] 为了说明的目的,当在IVT反应中使用二聚体帽时,那么能够在起始位点的位置+1处杂交的NTP的浓度可以低于反应混合物中的其它NTP。因此,本文提供了组合物和方法,其中三种标准NTP以等摩尔量存在并且一种标准NTP以较低量存在。使用图17中的启动子序列进行具体说明,其中模板链的位置+1处的碱基是C。因此,在一些此类情况下,IVT反应混合物将含有等摩尔量的ATP、UTP和CTP,但含有较少量的GTP。进一步地,三种其它NTP与GTP的比率可以为约1:0.1至约1:0.95(例如,约1:0.1至约1:0.9、约1:0.2至约1:0.9、约1:0.25至约1:0.9、约1:0.3至约1:0.9、约1:0.4至约1:0.9、约1:0.2至约1:0.7、约1:0.25至约1:0.6、约1:0.15至约1:0.6等)。进一步地,如果例如二聚体帽具有核苷酸序列G-A,那么转录反应混合物中存在的ATP的量可能低于其它三种NTP。

[0299] 在一些情况下,在转录反应混合物中,GTP、CTP和UTP可以超过ATP使用。作为非限制性实例,IVT反应可包含7.5毫摩尔GTP、7.5毫摩尔CTP、7.5毫摩尔UTP和3.75毫摩尔ATP。相同的IVT反应混合物可以包含3.75毫摩尔帽类似物(例如,三聚体帽)。在一些情况下,G:C:U:A:帽的摩尔比可以是1:1:1:0.5:0.5、1:1:0.5:1:0.5、1:0.5:1:1:0.5、0.5:1:1:1:0.5、0.9:0.9:1:1:0.5、0.9:0.9:1:0.5:0.5。在一些情况下,与形成两个氢键(ATP和UTP)的NTPS相比,与其同源碱基(GTP和CTP)形成三个氢键的一个或两个NTP的比率可能更低。进一步地,IVT反应混合物中存在的ATP/UTP与CTP/UTP地比率可以为1.5比1与1.1比1。

[0300] 具有化学修饰的RNA分子

[0301] 在一些情况下,可能期望产生包括一种或多种化学修饰的RNA分子。在此情况下,化学修饰是指在含有四种标准NTP的IVT系统中产生的RNA中通常不会发现的化学改变。因此,化学修饰包含超过100种天然存在的RNA化学修饰,如N⁶-甲基腺苷(m ^{6} A)、假尿苷、3-甲基胞苷(m ^{3} C)和2'-O-甲基修饰。

[0302] 如本文所提供的用于例如在IVT反应中产生RNA的天然存在的核苷酸的实例包含腺苷三磷酸(ATP)、鸟苷三磷酸(GTP)、胞苷三磷酸(CTP)、尿苷三磷酸(UTP)和5-甲基尿苷三磷酸(m ^{5} UTP)。在一些实施例中,使用腺苷二磷酸(ADP)、鸟苷二磷酸(GDP)、胞苷二磷酸(CDP)和/或尿苷二磷酸(UDP)。一种用于产生含有化学修饰的RNA分子(例如,mRNA分子)的方法是通过在IVT反应混合物中包含经化学修饰的核苷或其它组分。

[0303] 核苷酸类似物的实例包含可以用于使用本文所描述的组合物IVT反应的核苷酸类似物,包含但不限于抗病毒核苷酸类似物、磷酸盐类似物(可溶性或固定的可水解或不可

水解的)、二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸,例如,帽类似物、或用于酶促封端(牛痘或连接酶)的前体/底物、标记有官能团以促进帽或5'部分(IRES)的连接/缀合的核苷酸、标记有5'PO₄以促进帽或5'部分的连接的核苷酸,或标记有可化学切割或酶促切割的官能团/保护基团的核苷酸。抗病毒核苷酸/核苷类似物的实例包含但不限于更昔洛韦(Ganciclovir)、恩替卡韦(Entecavir)、替比夫定(Telbivudine)、阿糖腺苷(Vidarabine)和西多福韦(Cidofovir)。

[0304] 经修饰的核苷酸可以包含经修饰的核碱基。例如,本公开的RNA转录物(例如,mRNA转录物)可以包含选自以下的经修饰的核碱基:假尿苷(Ψ)、1-甲基假尿苷($m^1\Psi$)、1-乙基假尿苷、2-硫代尿苷、4'-硫代尿苷、2-硫代-1-甲基-1-脱氮-假尿苷、2-硫代-1-甲基-假尿苷、2-硫代-5-氮杂-尿苷、2-硫代-二氢假尿苷、2-硫代-二氢尿苷、2-硫代-假尿苷、4-甲氧基-2-硫代-假尿苷、4-甲氧基-假尿苷、4-硫代-1-甲基-假尿苷、4-硫代-假尿苷、5-氮杂-尿苷、二氢假尿苷、5-甲基尿苷、5-甲氧基尿苷(mo^5U)和2'-O-甲基尿苷。在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含至少两个(例如,2个、3个、4个或更多个)前述经修饰的核碱基的组合。

[0305] 如本文所提供的核苷三磷酸(NTP)可以包括未经修饰或经修饰的ATP、经修饰或未经修饰的UTP、经修饰或未经修饰的GTP和/或经修饰或未经修饰的CTP。在一些实施例中,IVT反应的NTP包括未经修饰的ATP。在一些实施例中,IVT反应的NTP包括经修饰的ATP。在一些实施例中,IVT反应的NTP包括未经修饰的UTP。在一些实施例中,IVT反应的NTP包括经修饰的UTP。在一些实施例中,IVT反应的NTP包括未经修饰的GTP。在一些实施例中,IVT反应的NTP包括经修饰的GTP。在一些实施例中,IVT反应的NTP包括未经修饰的CTP。在一些实施例中,IVT反应的NTP包括经修饰的CTP。

[0306] 在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含选自以下的经修饰的核碱基:假尿苷(Ψ)、1-甲基假尿苷($m^1\Psi$)、5-甲氧基尿苷(mo^5U)、5-甲基胞苷(m^5C)、 α -硫代-鸟苷和 α -硫代-腺苷。在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含至少两个(例如,2个、3个、4个或更多个)经修饰的核碱基,如本文所示的经修饰的核碱基的组合。

[0307] 在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含假尿苷(Ψ)。在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含1-甲基假尿苷($m^1\Psi$)。在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含5-甲氧基尿苷(mo^5U)。在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含5-甲基胞苷(m^5C)。在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含 α -硫代-鸟苷。在一些实施例中,RNA转录物(例如,mRNA转录物)包含 α -硫代-腺苷。

[0308] 在一些实施例中,多核苷酸(例如,RNA多核苷酸,如mRNA多核苷酸)被统一修饰(例如,被完全修饰、在整个序列中被修饰)以进行特定修饰。例如,多核苷酸可以用1-甲基假尿苷($m^1\Psi$)统一修饰,这意味着mRNA序列中的所有尿苷残基均被1-甲基假尿苷($m^1\Psi$)替代。类似地,多核苷酸可以通过用经修饰的残基(如上文所示的经修饰的残基中的任一种)替代而对序列中存在的任何类型的核苷残基进行统一修饰。可替代地,多核苷酸(例如,RNA多核苷酸,如mRNA多核苷酸)可能不是被统一修饰的(例如,部分修饰,部分序列被修饰)。

[0309] 封端RNA制剂

[0310] 不希望受特定理论的束缚,与具有较低封端/未封端RNA比率的制剂相比,使用具有高封端/未封端RNA比率的封端RNA(例如,封端mRNA分子)制剂可能导致表达增加。因此,

在许多情况下,期望在将封端RNA分子引入到细胞中之前将封端RNA(例如,封端mRNA分子)与未封端RNA(例如,未封端mRNA分子)分离。此种分离可以通过许多方法进行,包含通过如高效液相色谱法(HPLC)或电泳和/或未封端RNA分子的选择性降解的方法纯化封端RN(例如,封端mRNA分子)。

[0311] 本文所描述的方法和组合物提供了产生掺入本文所描述的帽类似物的RNA的方法。除了包含本文所描述的帽类似物之外,使用本文所描述的帽类似物在IVT反应中产生的mRNA的效率可以是在相同条件下在IVT反应中产生的mRNA的产率的至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或更多、或其间的任何值。

[0312] 本文所提供的方法和组合物提供了产生RNA的方法,其中在IVT产生的总mRNA的至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或更多、或其之间的任何值用本文所描述的帽类似物封端。换句话说,封端效率为至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%或更多(例如,约50%至约99%、约60%至约99%、约70%至约99%、约80%至约99%、约85%至约99%、约85%至约95%、约90%至约96%)。

[0313] 本文所提供的用于制备掺入本文所提供的帽的RNA制剂的方法可以有利地包含降解未封端RNA的步骤,由此纯化或富集封端RNA物种。可以通过本领域技术人员已知的任何方式来完成去除未封端RNA,所述方式包含但不限于酶促消化。例如,RNA制剂可以用RNA 5'多磷酸酶处理,从5'三磷酸化RNA中去除焦磷酸盐,从而留下单磷酸5'端。随后可以用5'→3'核糖核酸外切酶处理所述制剂,这需要5'单磷酸RNA作为底物。一类此类酶是XRN 5'→3'核糖核酸外切酶(参见Nagarajan等人,“XRN 5'→3'外核糖核酸酶:结构、机制和功能(XRN 5'→3'exoribonucleases:Structure,mechanisms and functions)”,《生物化学与生物物理学报(Biochim Biophys Acta.)》,1829:590603.(2013))。因此,用这两种酶处理将选择性地降解未封端RNA,从而使封端RNA完好无损。

[0314] 本文所描述的方法包含其中未被封端的RNA分子(例如,mRNA分子)优先于封端RNA分子(例如,封端mRNA分子)降解的那些方法,以及用于进行此类方法的组合物。在优先降解未封端RNA之前,可以在处理或不处理反应混合物中存在的RNA的情况下进行此类方法。当处理反应混合物以制备用于降解的RNA分子亚群(例如,未封端RNA分子)时,此种制备可能发生在用5'→3'核糖核酸外切酶降解RNA之前或同时发生。因此,用于通过5'→3'核糖核酸外切酶降解的RNA分子的制备和RNA分子的降解可能在不同时间或同时发生在同一反应混合物中。在一些情况下,可能需要对期望降解的RNA分子的5'末端进行修饰,以便5'→3'核糖核酸外切酶将作用于末端。其中一个实例是当XRN1核糖核酸外切酶用于降解未封端RNA分子时。

[0315] XRN1是降解含有单个5'磷酸基团的RNA分子的末端的进行性XRN1核糖核酸外切酶。一种可商购获得的XRN1核糖核酸外切酶可从新英格兰生物实验室(New England Biolabs)(目录号M0338S)获得。在一些或所有存在的、试图降解的含有多于一个5'磷酸基团的RNA分子的情况下,通常期望将磷酸基团的数量减少到一个。许多方法可以用于从RNA中去除5'磷酸基团,包含采用磷酸酶用于酶促去除这些基团的方法。一类此类酶是RNA 5'多磷酸酶(例如,Lucigen公司(Lucigen),目录号RP8092H)。

[0316] 本文所示的方法包含其中封端RNA的量相对于未封端RNA增加至少50%(例如,增

加至少约50%至约500%、约100%至约500%、约150%至约500%、约200%至约500%、约250%至约500%、约300%至约500%、约50%至约1,000%、约150%至约1,000%、约300%至约1,000%、约400%至约1,000%)。以下是如何计算增加百分比的实例。假设样品中存在100mg封端RNA和50mg未封端RNA。如果未封端RNA的量减少到25mg,那么未封端RNA的总量就会减少一半。进一步地,封端RNA与未封端RNA的比率将从2:1变为4:1,并且封端RNA的量将比未封端RNA的量增加21%。

[0317] 例如,包括如本文所描述的三核苷酸封端RNA的组合物可以用于例如体外转录、体外翻译和体内翻译。当前用于体外、原位和体内蛋白质产生的生物技术努力也将受益于这些方法和组合物。进一步地,本文所提供的组合物可用于治疗目的。例如,本技术可用于产生针对传染病或癌症的疫苗、蛋白质替代疗法等。本领域技术人员将容易地理解,本文所描述的封端技术和组合物可以普遍用于mRNA疫苗中。例如,本文所描述的RNA帽可以被掺入疫苗中有用的RNA序列中,包括但不限于US20180318409A1、US20190351040、US20180271970、US20190054112、US20190336595、US20180311336、US20180303929、W02017/070601、W02019/202035、W02020/002525、W02019/193183、W02019/115635、W02019/038332、W02019/008001、W02018/167320、W02018/115527、W02018/115525、W02018/115507、W02018/104538、W02018/104540中所描述的序列。

[0318] 炔烃衍生的封端RNA可用于产生含有编码免疫原的RNA的病毒的非感染性颗粒。这些非复制型病毒颗粒可以注射到人体中,在所述人体中可以进入宿主细胞。一旦进入宿主细胞,病毒颗粒就会解离,并且编码免疫原的mRNA会被翻译成蛋白质。这些蛋白质可以诱导免疫应答。

[0319] 基于RNA的疫苗可以用于针对传染剂进行疫苗接种,所述传染剂如病毒,例如冠状病毒(如MERS、SARS-CoV和SARS-CoV-2)、人体免疫缺陷病毒(HIV)、猫免疫缺陷病毒、人乳头状瘤病毒16型、肿瘤、拉沙病毒、埃博拉病毒、马尔堡病毒、来自炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)的炭疽毒素和肉毒杆菌毒素。因此,可以使用RNA疫苗的病毒的非限制性实例包含:腺相关病毒、爱知病毒(Aichi virus)、澳大利亚蝙蝠狂犬病毒(Australian bat lyssavims)、BK多瘤病毒(BK polyomavirus)、版纳病毒(Banna virus)、巴马森林病毒(Barmah forest virus)、布尼奥罗病毒(Bunyamwera virus)、拉克罗斯布尼亚病毒(Bunyavirus La Crosse)、雪兔布尼亚病毒(Bunyavirus snowshoe hare)、猕猴疱疹病毒(Cercopithecine herpesvirus)、金迪普拉病毒(Chandipura virus)、基孔肯雅病毒(Chikungunya virus)、柯萨病毒A(Cosavirus A)、牛痘病毒(Cowpox virus)、柯萨奇病毒(Coxsackievirus)、克里米亚-刚果出血热病毒(Crimean-Congo hemorrhagic fever virus)、登革热病毒、多里病毒(Dhori virus)、道格比病毒(Dugbe virus)、杜文哈格病毒(Duvenhage virus)、东部马脑炎病毒(Eastern equine encephalitis virus)、埃博拉病毒、艾柯病毒(Echovirus)、脑心肌炎病毒(Encephalomyocarditis virus)、爱泼斯坦-巴尔病毒(Epstein-Barr virus)、欧洲蝙蝠狂犬病毒(European bat lyssavirus)、GB病毒C/庚型肝炎病毒(GB virus C/Hepatitis G virus)、汉坦病毒(Hantaan virus)、亨德拉病毒(Hendra virus)、甲型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、戊型肝炎病毒、人疱疹病毒1(Human herpesvirus 1)、丁型肝炎病毒、马痘病毒(Horsepox virus)、人腺病毒、人星状病毒、人冠状病毒、人巨细胞病毒、人疱疹病毒1、人疱疹病毒2、人疱疹病毒6、人疱疹病毒7、

人疱疹病毒8、人类免疫缺陷病毒、人乳头瘤病毒1、人乳头瘤病毒2、人乳头瘤病毒16,18、人副流感病毒、人细小病毒B19、人呼吸道合胞病毒、人鼻病毒、人SARS冠状病毒、人唾液逆转录病毒(Human spumaretrovirus)、人T淋巴细胞性病毒、人环曲病毒、甲型流感病毒、乙型流感病毒、丙型流感病毒、伊斯法罕病毒(Isfahan virus)、JC多瘤病毒(JC polyomavirus)、日本脑炎病毒、呼宁砂粒样病毒(Junin arenavirus)、KI多瘤病毒(KI polyomavirus)、昆津病毒(Kunjin virus)、拉哥斯蝙蝠病毒(Lagos bat virus)、维多利亚湖马尔堡病毒(Lake Victoria Marburgvirus)、兰加特病毒(Langat virus)、拉沙病毒、洛兹达雷病毒(Lordsdale virus)、跳跃病病毒(Louping ill virus)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(Lymphocytic choriomeningitis virus)、马丘波病毒(Machupo virus)、马雅罗病毒(Mayaro virus)、中东呼吸综合征(MERS)冠状病毒、麻疹病毒尤库尼米、孟戈脑心肌炎病毒(Mengo encephalomyocarditis virus)、默克尔细胞多瘤病毒(Merkel cell polymavirus)、莫科拉病毒(Mokola virus)、传染性软疣病毒(Molluscum contagiosum virus)、猴痘病毒(Monkeypox virus)、腮腺炎病毒(Mumps virus)、墨累山谷脑炎病毒(Murray valley encephalitis virus)、纽约病毒(New York virus)、尼帕病毒(Nipah virus)、诺沃克病毒(Norwalk virus)、阿尼昂尼昂病毒(O'nyong-nyong virus)、口疮病毒(Orf virus)、奥罗普切病毒(Oropouche virus)、皮秦德病毒(Pichinde virus)、脊髓灰质炎病毒(Poliovirus)、庞塔托鲁静脉病毒(Punta toro phlebovirus)、普马拉病毒(Puumala virus)、狂犬病病毒(Rabies virus)、裂谷热病毒(Rift valley fever virus)、罗莎病毒A(Rosavirus A)、罗斯河病毒(Ross river virus)、轮状病毒A、轮状病毒B、轮状病毒C、风疹病毒(Rubella virus)、鹭山病毒(Sagiyama virus)、萨利病毒A(Salivirus A)、白蛉热西西里病毒(Sandfly fever Sicilian virus)、札幌病毒(Sapporo virus)、SARS冠状病毒2型(SARS coronavirus 2)、塞姆利基森林病毒(Semliki forest virus)、汉城病毒(Seoul virus)、猴泡沫病毒(Simian foam virus)、猴病毒5、辛德毕斯病毒(Sindbis virus)、南汉普顿病毒(Southampton virus)、圣路易斯脑炎病毒(St.louis encephalitis virus)、蜱传播的玻瓦桑病毒(Tick-borne Powassan virus)、细环病毒(Torque teno virus)、托斯卡纳病毒(Toscana virus)、病毒(Uukuniemi virus)、牛痘病毒(Vaccinia virus)、水痘带状疱疹病毒(Varicella-zoster virus)、天花病毒(Variola virus)、委内瑞拉马脑炎病毒(Venezuelan equine encephalitis virus)、水泡性口炎病毒(Vesicular stomatitis virus)、西部马脑炎病毒(Western equine encephalitis virus)、WU多瘤病毒(WU polyomavirus)、西尼罗病毒(West Nile virus)、雅巴猴肿瘤病毒(Yaba monkey tumor virus)、雅巴样疾病病毒(Yaba-like disease virus)、黄热病病毒(Yellow fever virus)、寨卡病毒(Zika virus)。

[0320] 这些疫苗策略可能需要大量封端RNA。本方法促进了封端RNA的这种合成和随后的纯化,从而使这些疫苗在商业上可行。同样,在疫苗行业中,增加转录反应中全-长封端RNA的百分比以产生更均一的产物的策略将是优选的,因为人类使用通常需要高纯度的组分。另外,研究人员更喜欢使用尽可能纯的产物,以尽量减少实验中的变量数量。同样,产物越纯,其就越有效。

[0321] 另外的实施例涉及组合物的施用,所述组合物通常包括用药学上可接受的赋形剂调配的活性成分(例如,三核苷酸封端RNA)。赋形剂可以包含例如糖、淀粉、纤维素、树胶和

蛋白质。各种调配物是众所周知的,并且在最新一期的《雷明顿药物科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)》(宾夕法尼亚州伊斯顿的Maack出版社 (Maack Publishing, Easton Pa.))中进行了详尽的讨论。此类组合物可以包含新型帽类似物、针对新型帽类似物的抗体以及新型帽类似物的模拟物、激动剂、拮抗剂或抑制剂。

[0322] 在各个实施例中,本文所描述的组合物,如药物组合物,可以通过多种途径施用,所述途径包含但不限于口服、静脉内、肌肉内、动脉内、髓内、鞘内、心室内、肺部、经皮、皮下、腹膜内、鼻内、肠内、局部、舌下或直肠方式。

[0323] 可以根据以下实例来进一步理解本公开的实施例,这些实例不应该被解释为以任何方式限制本公开的范围。

[0324] 本领域的普通技术人员将了解,多种修改、替代方案和等效物是可能的。所有此类修改、替代方案和等效物都打算涵盖在本文中。

[0325] 实例

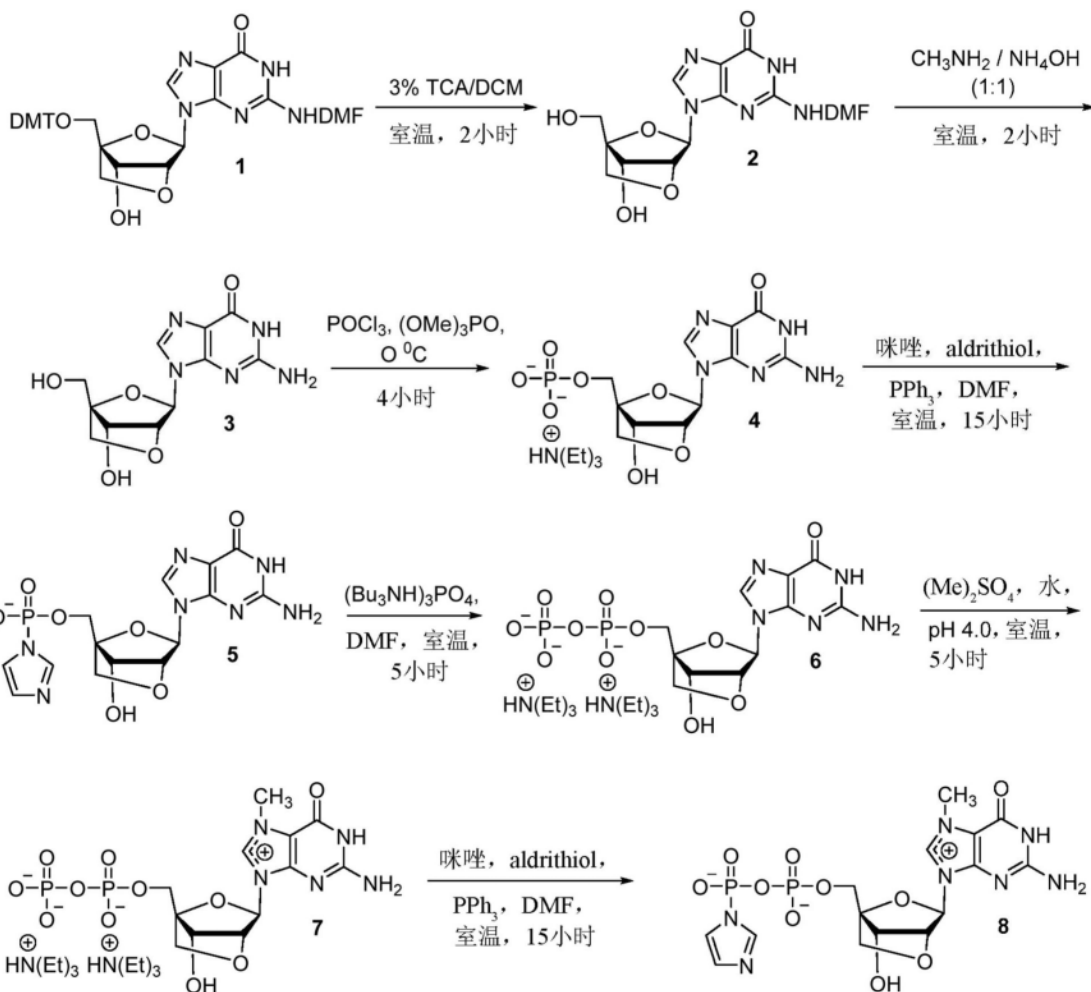
[0326] 以下实例提供了产生三核苷酸帽类似物的方法。

[0327] 试剂:除非另有说明,否则试剂和溶剂无需进一步纯化即可使用。3'-O-炔丙基鸟苷购自美国Chemgenes公司 (Chemgenes, USA), ^1H NMR和 ^{31}P NMR光谱在Burker 400MHz仪器上的 D_2O 中记录。ESI质谱记录在应用生物系统公司 (Applied Biosystems)/Sciex API 150模型上。HPLC在使用阴离子交换柱的沃特世2996 (沃特世公司)上运行。使用DEAE琼脂糖柱在AKTA提纯器 (安玛西亚生物技术公司 (Amersham Biosciences), 通用电气医疗集团 (GE Healthcare))中进行离子交换色谱法。通过使用pTriB肌动蛋白模板进行凝胶迁移测定,并且IVT反应使用线性化AmbLuc poly (A) DNA模板和MEGASCRIPT试剂盒 (赛默飞世尔科技公司 (Thermo Fisher Scientific))。所关注的凝胶带中的辐射通过磷相仪 (通用电气医疗集团)进行定量。根据制造商的方案,通过使用MEGACLEAR试剂盒 (生命技术公司 (Life Technologies Corporation))从这些转录反应中纯化RNA。光度计 (POLARstar OPTIMA.BMG Labtech) 在96孔板中用于按照制造商的方案进行荧光素酶测定读数。

[0328] 实例1:中间体合成方案

[0329] 获得用于三核苷酸合成的中间体的示例性合成途径如下所示。

[0330] 中间体方案A:Imm⁷ (LNA) GDP (8) 的合成:



[0331]

[0332] 中间体实例1:DMF保护的LNA鸟苷(2)的合成:

[0333] 向含50mL 3%三氯乙酸的二氯甲烷的搅拌溶液中添加5'-DMT-N-DMF LNA鸟苷1 (5.00g, 7.48mmol), 并将反应混合物在室温下搅拌持续2小时。在旋转蒸发器下将反应混合物蒸发至干燥。向所得橙色固体中添加50mL二乙醚, 并允许在室温下搅拌持续30分钟。将所得混合物过滤并在真空下干燥以得到白色固体2 (产率: 2.67g, 95%)。此粗材料在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。

[0334] 中间体实例2:LNA鸟苷(3)的合成:

[0335] 向40mL的40%甲基胺水溶液和28%氢氧化铵的1:1混合物的搅拌溶液中添加DMF保护的LNA鸟苷2 (2.67g, 7.04mmol), 并将反应混合物在室温下搅拌持续2小时。2小时后, 将反应混合物在旋转蒸发器下蒸发以得到白色固体3 (产率, 1.98g, 95%)。此粗材料在不进行进一步纯化的情况下用于下一步骤。

[0336] 中间体实例3:LNA-GMP(4)的合成:

[0337] 在氩气氛下在 0°C 下, 向 POCl_3 (1.69g, 11.19mmol) 和 $(\text{MeO})_3\text{P}$ (15.0mL) 的搅拌溶液中添加LNA鸟苷6 (1.10g, 3.72mmol) 并将反应混合物在 0°C 下搅拌持续4小时。4小时后, 向反应混合物中添加将50.0mL水。将所得反应混合物用乙酸乙酯 ($2 \times 50\text{mL}$) 洗涤以去除磷酸化剂。将收集的水溶液调节至pH 1.5, 并允许在 4°C 下搅拌持续15小时。15小时后, 将水溶液的调节至pH 5.5并加载到DEAE琼脂糖柱上。使用0-1M TEAB (三乙基碳酸氢铵, pH 7.5) 的线性梯度洗脱所期望的产物, 并汇集含有产物的级分, 蒸发并在真空干燥器中用五氧化二磷干

燥以得到白色细粉末4(产率:1.43g,78%)。4的数据。¹H NMR (D₂O,400MHz) δ8.01 (s,1H), 5.91 (s,1H), 4.63 (s,1H), 4.58 (s,1H), 4.16 (m,3H), 4.03 (d,J=8.4Hz,1H), 3.20 (q,J=7.6Hz,6H), 1.28 (t,J=7.2Hz,9H); ³¹P NMR (D₂O,162MHz) δ-5.40 (s,1P); MS (m/z): 374 [M-H]⁻。

[0338] 中间体实例4:ImLNA-GMP (5)的合成:

[0339] 向含LNA-GMP TEA盐4 (1.35g,2.84mmol)的20mL干燥DMF的搅拌溶液中添加咪唑 (0.97g,14.24mmol)、三苯基膦 (1.50g,5.70mmol)、aldrithiol (1.25g,5.70mmol)和三乙胺 (0.29g,2.84mmol)。将反应混合物在室温下在氩气氛下搅拌持续15小时。在0℃下在离心管中,向含高氯酸钠 (2g)的100mL丙酮溶液中缓慢添加上述反应混合物,持续5分钟。将所得混合物离心,并去除上清液。用一部分新的丙酮 (100mL) 研磨固体,冷却并再次离心。重复此过程两次以上,并将所得固体在真空干燥器中用P₂O₅干燥以得到白色粉末5 (产率:1.05g,83%)。MS (m/z): 424 [M-H]⁻。

[0340] 中间体实例5:LNA-GDP (6)的合成:

[0341] 在氩气氛下,向含ImLNA-GMP 5 (1.00g,2.23mmol)和氯化锌 (0.61g,4.46mmol)的10.0mL干燥DMF的搅拌溶液中添加15mL含1M三(三丁基铵)磷酸酯的DMF。将反应混合物在室温下搅拌5小时。5小时后,将反应混合物用50.0mL的水稀释。将所得反应混合物用乙酸乙酯 (2×50mL) 洗涤以去除磷酸化剂。将收集的水溶液的调节至pH 5.5并加载到DEAE琼脂糖柱上。使用0-1M TEAB的线性梯度洗脱所期望的产物,并汇集含有产物的级分,蒸发并在真空干燥器中用五氧化二磷干燥以得到白色细粉末6 (产率1.10g,75%)。6的数据。¹H NMR (D₂O,400MHz) δ8.00 (s,1H), 5.95 (s,1H), 4.63 (s,2H), 4.37 (m,2H), 4.14 (d,J=8.4Hz,1H), 4.04 (d,J=8.4Hz,1H), 3.20 (q,J=7.2Hz,12H), 1.28 (t,J=7.6Hz,18H); ³¹P NMR (D₂O,162MHz) δ-8.94 (d,J=20.9Hz,1P), 9.99 (d,J=21.3Hz,1P); MS (m/z): 454 [M-H]⁻。

[0342] 中间体实例6:m^{7(LNA)}GDP (7)的合成:

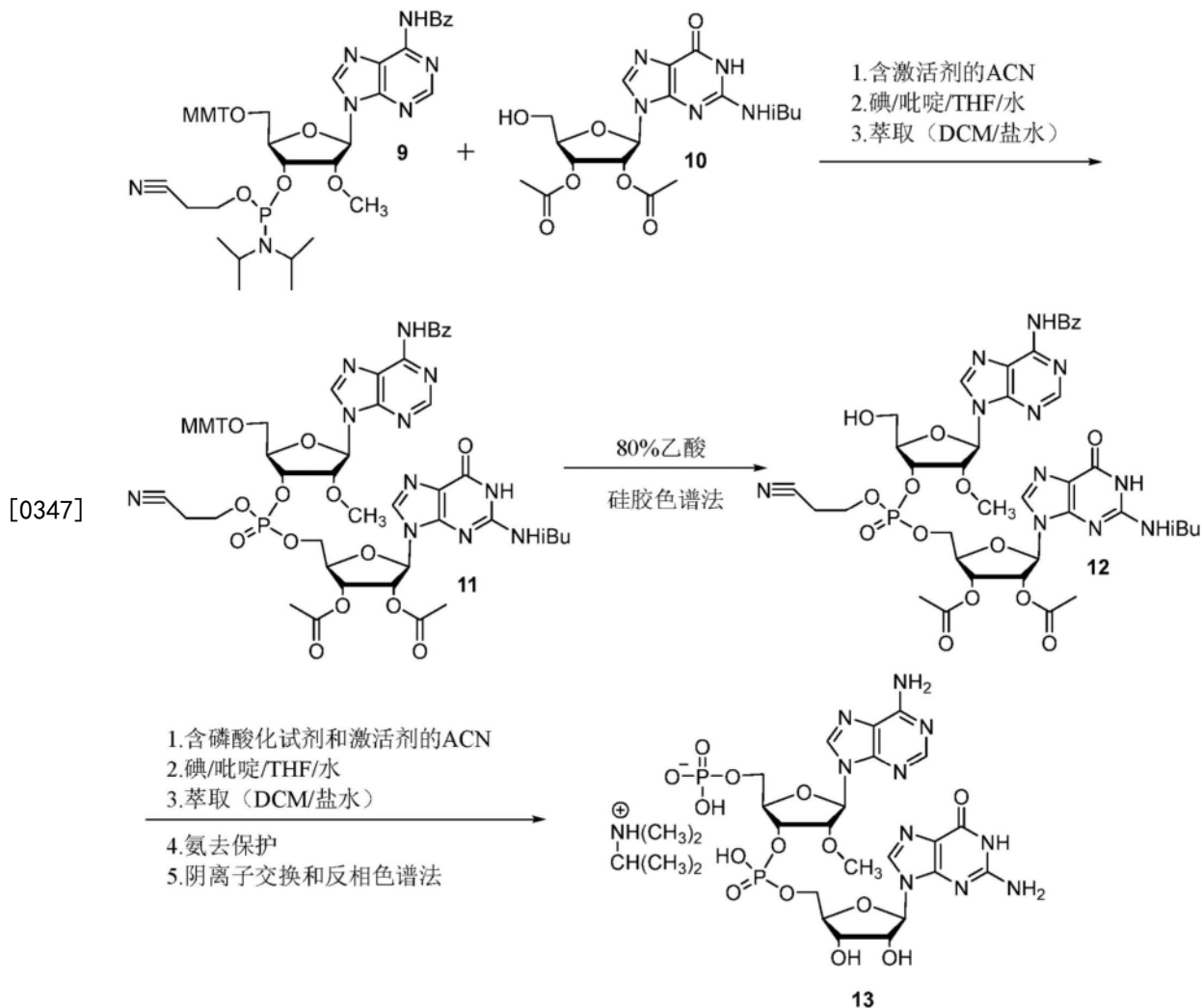
[0343] 向含LNA-GDP 6 (1.00g,1.52mmol)的20.0mL的水的搅拌溶液中缓慢添加乙酸以将溶液的pH调节至4.0。在30分钟内向此混合物中滴加硫酸二甲酯 (2.0mL),并允许反应混合物在室温下搅拌持续5小时。随着甲基化的进行,pH下降至2.0左右,并且使用1M NaOH溶液将pH重新调节回4.0。5小时后,将反应混合物用乙酸乙酯 (3X 50mL) 萃取以去除未反应的过量的硫酸二甲酯。将收集的水溶液调节至pH 5.5并加载到DEAE Sephadex柱上。使用0-1M TEAB的线性梯度洗脱所期望的产物,并汇集含有产物的级分,蒸发并在真空干燥器中用五氧化二磷干燥以得到白色细粉末7 (产率0.70g,68%)。7的数据。¹H NMR (D₂O,400MHz) δ6.05 (s,1H), 4.73 (s,1H), 4.55 (s,1H), 4.42 (m,1H), 4.32 (m,1H), 4.13 (s,3H), 4.11 (d,J=6.0Hz,1H), 4.00 (d,J=8.8Hz,1H), 3.20 (q,J=7.2Hz,12H), 1.28 (t,J=7.2Hz,18H); ³¹P NMR (D₂O,162MHz) δ-6.18 (d,J=23.0Hz,1P), -9.56 (d,J=22.8Hz,1P); MS (m/z): 468 [M-H]⁻。

[0344] 中间体实例7:Imm^{7(LNA)}GDP (8)的合成:

[0345] 向含m^{7(LNA)}GDP TEA盐7 (0.65g,0.96mmol)的15mL干燥DMF的搅拌溶液中添加咪唑 (0.33g,4.84mmol)、三苯基膦 (0.51g,1.93mmol)、aldrithiol (0.43g,1.93mmol)和三乙胺 (0.10g,0.96mmol)。将反应混合物在室温下在氩气氛下搅拌持续15小时。在0℃下在离心管中,向含高氯酸钠 (2g)的100mL丙酮溶液中缓慢添加上述反应混合物,持续5分钟。将所得混合物离心,并去除上清液。用一部分新的丙酮 (100mL) 研磨固体,冷却并再次离心。重复此过

程两次以上,并将所得固体在真空干燥器中用 P_2O_5 干燥以得到白色粉末8(产率:0.42g, 80%)。MS(m/z):517[M-H]⁻。

[0346] 中间体方案B:二核苷酸pAmpG(13)的合成:



[0348] 中间体实例8:二核苷酸pAmpG(13)的合成:

[0349] 在典型的反应中,将MMT-2'-O-甲基腺苷(n-bz)CED亚磷酰胺9(2.0mmol)和2',3'-二乙酰鸟苷(n-ibu)10(2.0mmol)在含有4.5摩尔当量的激活剂(含四唑的乙腈)的20mL乙腈中反应。在室温下搅拌2小时后,将中间体产物用碘/吡啶/THF/水从P(III)氧化成P(V)状态,并用二氯甲烷(400mL)和盐水(400mL)萃取。将所得有机层用硫酸钠干燥并蒸发成固体形式中间体11。

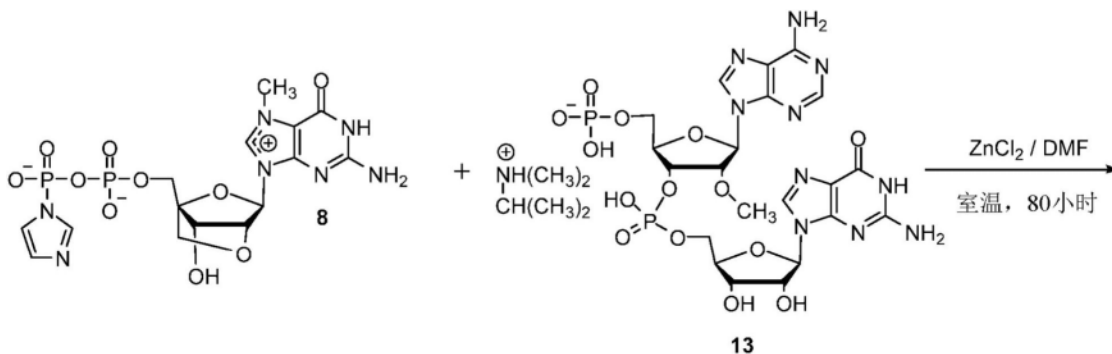
[0350] 为了去除5'-MMT基团,将中间体11溶解在20mL的80%乙酸中并将所得反应混合物在室温下搅拌持续约2至3小时。反应完成后,将混合物蒸发并与甲醇(6x60mL)共蒸发以去除乙酸。使用含5%甲醇的二氯甲烷作为洗脱液,通过硅胶色谱法分离并纯化粗5'-OH二聚体12。

[0351] 将5'-OH二聚体12(2.0mmol)用四当量的双氰乙基-N,N-二异丙基-亚磷酰胺和四当量的激活剂(含四唑的20mL乙腈)亚磷酰化。在室温下搅拌45分钟后,将5'-亚磷酰化二聚体用碘/吡啶/THF/水从P(III)氧化成P(V)状态,并用二氯甲烷(300mL)和盐水(300mL)萃取。将有机层蒸发成油状残余物,与甲醇(2x60mL)共蒸发,并溶解在25mL甲醇中并添加浓氨

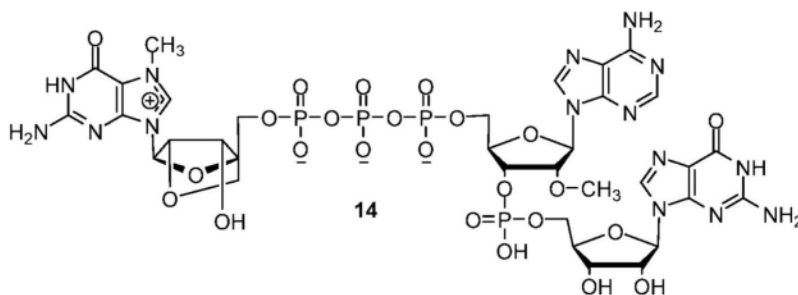
水 (25mL)。将所得混合物在室温下保持48小时以上,直到pAmpG二聚体13的去保护完成。将混合物蒸发并与甲醇共蒸发,并将所得二聚体通过LC/MS (MS (m/z) : 705 [M-H]⁻) 表征并用于进一步缀合以合成三核苷酸帽类似物。

[0352] 实例2:LNA三核苷酸帽类似物 (14) 的合成:

[0353] 以下通用三核苷酸方案展示了来自中间体方案 (A) 和中间体方案 (B) 的中间体的组合以获得本文所描述的示例性三核苷酸帽类似物。在此图示中,本公开的三核苷酸类似物 (14) 是锁定帽类似物。



[0354]



[0355] 三核苷酸帽类似物实例1——LNA三核苷酸帽类似物 (14) 的合成:

[0356] 在氩气氛下向含Imm⁷(LNA)GDP 8 (0.10g, 0.18mmol) 和pAmpG N,N-二甲基异丙基铵盐13 (0.14g, 0.18mmol) 的10.0mL干燥DMF的搅拌溶液中添加氯化锌 (0.15g, 1.10mmol), 并将反应混合物在室温下搅拌持续80小时。在0℃下, 向含EDTA二钠 (0.55g, 1.48mmol) 的100.0mL水的溶液中添加反应混合物。将所得水溶液调节至pH 5.5并加载到DEAE Sephadex柱上。使用0-1M TEAB的线性梯度洗脱所期望的产物, 并汇集含有产物的级分, 蒸发并浓缩至10.0mL TEA盐14。将产物的TEA盐溶解在水 (5mL) 中, 并且然后倒入到含高氯酸钠 (2.0g) 的丙酮 (50mL) 溶液中。将所得混合物离心并弃去上清液。将获得的固体用丙酮 (2x50mL) 洗涤并在真空中干燥以得到LNA三核苷酸帽类似物14的钠盐 (产率: 0.12g, 55%)。14的数据¹H NMR (D₂O, 400MHz) δ 8.39 (s, 1H), 7.94 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 6.01 (d, J=6.0Hz, 1H), 5.87 (d, J=6.0Hz, 1H), 5.55 (s, 1H), 4.83 (m, 1H), 4.43 (m, 4H), 4.31 (m, 2H), 4.23 (m, 4H), 4.10 (m, 3H), 3.99 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.29 (s, 3H); ³¹P NMR (D₂O, 162MHz) δ -0.92 (s, 1P), -11.11 (d, J=19.4Hz, 1P), -10.42 (d, J=17.8Hz, 1P), -22.91 (t, J=17.8Hz, 1P); MS (MALDI, m/z) : 1156 [M-H]⁻。

[0357] 实例3: 用LNA三核苷酸帽类似物进行体外转录

[0358] 以下实例表明, 本文所描述的合成CAP可以在体外掺入到mRNA中。简言之, 包含在

T7启动子控制下的GFP的编码序列的线性化DNA用于体外转录反应,所述体外转录反应使用缓冲液和来自M^{MESSAGE} M^{MACHINE}™ T7试剂盒(赛默飞世尔科技公司,目录号AM1344)和NTP/帽混合物。NTP/帽混合物含有NTP和无帽、ARCA帽类似物(赛默飞世尔科技公司,目录号AM8045)、GAG帽类似物(C_{LEANCAP}™ AG, Trilink生物技术公司,目录号N-7113),或如本文所描述的化合物(14)的混合物。使用含有野生型T7启动子(含有GGG起始)的DNA模板进行与ARCA或无帽的反应。含有经修饰T7启动子(含有AGG起始)的DNA模板用于与GAG Cap帽类似物或经LNA修饰的GAG Cap帽(化合物14)的反应。在除与ARCA的反应以外的所有反应中,每个NTP和帽的浓度为5mM。与ARCA的反应含有以下帽/NTP浓度:各自为6mM ARCA、1.5mM GTP和7.5mM ATP、CTP和UTP。根据制造商的说明处理反应。每种反应产生大约1000个核苷酸的全长RNA转录物,包含约120nt poly(A)尾。根据制造商的说明,使用M_{EGA} C_{LEAR}™ RNA纯化试剂盒(赛默飞世尔科技公司,目录号AM1908)纯化RNA转录物,并通过测量N_{ANO} D_{ROP}™ 2000C光谱仪(赛默飞世尔科技公司,目录号ND-2000C)中260nm处的吸光度来定量RNA产率。如在图11中所示出的,含有LNA帽类似物的反应中的RNA产率优于ARCA帽反应。

[0359] 实例4:具有LNA帽类似物的封端效率

[0360] 将LNA帽类似物的封端效率与无帽对照、ARCA帽类似物和C_{LEAN} C_{AP}™帽类似物的封端效率进行比较。简言之,如实例3所描述的进行体外转录反应。为了能够例如在生物分析仪上分辨未封端mRNA对封端mRNA,将来自体外转录反应的1-2μg RNA样品用DNA酶寡核苷酸处理,以将RNA从5'端(无帽)、31个核苷酸长(ARCA, GAG-帽(GpppAG)修剪为30个核苷酸长,将在含有5μl 200mM Tris-HCl、pH 7.5、1μl的10μM DNA酶寡核苷酸TTGAGGTTGCTAGTGAAGGCTAGCTACAACGAACAGTTGTGTCAGAAGC (SEQ ID NO:584)和水的反应中的LNA帽类似物(经LNA修饰的GAG帽)修剪至总体积为16μl。将混合物在85℃下预热持续30秒,并在37℃下平衡持续5分钟。向混合物中添加4μl的50mM MgCl₂,从而允许器在37℃下温育持续一小时。为了终止反应,添加2μl TURBO™ DNA酶(赛默飞世尔科技公司,目录号AM2238),并在37℃下温育持续30分钟。根据制造商的方案,使用小RNA分析试剂盒(安捷伦公司(Agilent),目录号5067-1548)将1-2μl的反应加载到生物分析仪芯片(加利福尼亚州圣何塞的安捷伦公司(Agilent, San Jose, CA))上。未封端mRNA分子比分别用ARCA或LNA-帽类似物成功封端的mRNA物种短1个碱基。通过测量对应于封端或未封端物种的峰下面积,将封端效率计算为封端mRNA/总mRNA的量。

[0361] 如在图13中所示出的,LNA帽类似物的封端效率低于ARCA帽类似物和GAG帽类似物的封端效率。

[0362] 实例5:用LNA帽类似物封端的mRNA的转染效率和表达效率

[0363] 将LNA帽类似物的转染效率和表达效率与未封端mRNA、ARCA帽类似物和GAG帽(C_{LEAN} C_{AP}™)帽类似物进行比较。JAWSII小鼠永生化树突细胞系用于分析。用“粗”mRNA或“经HPLC纯化的mRNA”进行转染。对于“粗”mRNA,在使用如实例3中所描述的MEGACLEAR™ RNA纯化试剂盒纯化后直接使用转录物。对于“经HPLC纯化的”mRNA,未封端mRNA通过将10ug mRNA与20个单位的RNA 5'多磷酸酶(Lucigen公司,目录RP8092H)混合去除,其使未封端,但不是封端mRNA去磷酸化,从而留下单磷酸5'端,并在37℃下温育持续小时。根据制造商的说明,使用GeneJET RNA清除和浓缩微型kit™(赛默飞世尔科技公司,目录号K0842)纯化RNA转录物。将此经纯化的mRNA添加到2个单位的XmI(新英格兰生物实验室,目录M0338S),即进行性

5'->3'核糖核酸外切酶中,需要5'单磷酸作为底物,并在37℃下温育持续小时。根据制造商的说明,使用GeneJET RNA清除和浓缩微型kit™(赛默飞世尔科技公司,目录号K0842)纯化mRNA转录物。通过进行如实例4中所描述的封端测定来确认未封端转录物的去除。使用配备有Clarity® 5μm寡聚物-RP150x4.6mm柱并设置为65℃的安捷伦科技系列1260无限HPLC从上述经处理的样品中去除双链RNA(dsRNA)。在缓冲液A(0.1M三乙铵乙酸酯,pH 7.0)中以1毫升/分钟在10分钟内施加线性梯度为38%至70%的缓冲液B(0.1三乙铵乙酸酯pH 7.0和25%乙腈)。使用GeneJET RNA清除和浓缩微型试剂盒从收集的级分中回收RNA。通过Nanodrop确定所回收的mRNA的浓度,并且通过用抗dsRNA J2抗体进行斑点印迹来确认dsRNA的消耗。还使用具有RNA Nano 6000试剂盒的生物分析仪检查了转录物的质量。

[0364] 然后使用粗和经HPLC纯化的mRNA转染JAWS II细胞。根据美国组织细胞收集(ATCC)组织概述的方案培养细胞。将50,000个细胞接种到96孔板上,以便细胞在第二天(转染当天)70-90%汇合。使用LIPOFECTAMINE™ MESSENGERMAX™转染试剂(赛默飞世尔公司,目录LMRNA001)转染细胞。根据制造商的方案,将25ng粗或经HPLC纯化的mRNA与0.3μL MESSENGERMAX™转染试剂混合,并向细胞中添加混合物并在37℃下进行温育。根据制造商的方案,转染后24小时,去除含有悬浮细胞的培养基并添加到干净的板中,并用50μL TRYPLE™表达酶(赛默飞世尔科技公司,目录号12604013)分离贴壁细胞。将分离的细胞被转移到含有悬浮细胞的板上。将此细胞混合物运行通过ATTUNE NxT™流式细胞仪(赛默飞世尔科技公司,目录号A29004),并测量每个样品的10,000个细胞的GFP荧光。基于前向和侧向散射,在活单细胞上闸门控细胞。通过使用没有GFP的细胞来确定GFP的闸门控。通过确定GFP阳性闸门控中的细胞百分比来测量转染效率,并通过获取GFP阳性闸门控中每个样品的中值荧光强度(MFI)来定量GFP表达。使用FLOWJO™软件分析数据。

[0365] 如在图13中所示出的,当与未封端mRNA、用ARCA帽类似物封端的mRNA和用GAG-帽(CLEANCAP™AG)帽类似物封端的mRNA相比时,用LNA帽类似物封端的mRNA转录物示出了显著更高的转染效率。此外,图14示出了用LNA帽类似物封端的mRNA的表达效率比未封端mRNA转录物、用ARCA帽类似物封端的mRNA转录物和用GAG一帽(CLEANCAP™AG)帽类似物封端的mRNA转录物的表达效率高多于4倍。

[0366] 实例6:

[0367] 体外转录模板的创建

[0368] 各种体外转录(IVT)模板是通过具有含有野生型(WT)T7启动子、5'-UTR、eGFP和3'-UTR序列的DNA质粒的PCR使用P_{LATINUM}™ S_{UPPER}F_I™ II绿色PCR主混合物(赛默飞世尔科技公司,目录号12369010)创建的。通过正向引物通过定点诱变添加经修饰的T7启动子(表4)。使用P_{URE}L_{INKT}™ PCR纯化试剂盒(赛默飞世尔科技公司,目录号K310001)纯化PCR产物,并在水中稀释至100ng/μL。

[0369] 体外转录反应

[0370] 用500ng DNA模板、10μL 2X NTP/帽混合物(如下所述)、2μL 10X T7反应缓冲液和2μL T7酶混合物进行二十微升(20μL) IVT反应。反应缓冲液和酶混合物来自MESSAGE™ MACHINES™ T7 Ultra试剂盒(赛默飞世尔科技公司,目录号AMB13455)。将反应混合物在37℃下温育持续2小时以合成RNA转录物。反应结束时,添加1μL TURBO™ DNA酶(赛默飞世尔科技公司,目录号AM2239),并在37℃下温育持续15分钟以降解DNA模板。通过

MEGA_{CLEAR}TM转录清除试剂盒(赛默飞世尔科技公司,目录号AM1908)纯化RNA转录物。 $N_{ANO}D_{RoP}$ TM分光光度计(赛默飞世尔科技公司,目录号ND-2000C)用于测量经纯化的RNA样品的浓度。

[0371] 根据所使用的帽制备2X NTP/帽混合物。由3mM GTP、各自为15mM的ATP/CTP/UTP和12mM ARCA组成的ARCA混合物的ARCA:GTP比率为4:1。**CLEANCAP®**混合物含有各自为10mM的GTP/ATP/CTP/UTP和10mM**CLEANCAP®**(TriLink生物技术公司,目录号N-7113)。为了测试不同的**CLEANCAP®:NTP**比率,**CLEANCAP®**浓度相对于NTP浓度的变化(例如,4:1**CLEANCAP®:NTP**比率意指2X NTP/帽混合物含有各自为10mM的GTP/ATP/CTP/UTP和40mM**CLEANCAP®**)。无帽反应使用含有10mM每种NTP的2X NTP混合物。

[0372] 封端效率测定

[0373] 设计10-23 DNA酶以将RNA转录物从预期的转录起始位点切割30个核苷酸(Cairns等人,“10-23 DNA酶-底物配对相互作用的优化增强了嘌呤-胞嘧啶靶位点处的RNA切割活性(Optimisation of the 10-23 DNAzyme-substrate pairing interactions enhanced RNA cleavage activity at purine-cytosine target sites)”,《核酸研究》31(11):2883-2889(2003))。在含有含1-2μg RNA和0.5μM DNA酶的50mM Tris-HCl pH 7.5的20μl反应中进行DNA酶反应。将反应混合物在85℃下预热持续30秒并在37℃下平衡持续5分钟,并且然后添加氯化镁至10mM以使总体积为20μl。将反应混合物在37℃下温育持续1小时,并通过添加2μL TURBO DNA酶并在37℃下温育持续30分钟停止。

[0374] 通过与2X N_{ovEX} TM TBE-Urea样品缓冲液(赛默飞世尔科技公司,目录号LC6876)混合制备用于凝胶分析的DNA酶反应混合物并在70℃下加热持续2分钟。将样品加载到 NO_{VEX} TM 15%TBE-Urea凝胶(赛默飞世尔科技公司,目录号EC68855BOX)上并在15V、15mA下运行持续1小时和40分钟或直到溴酚蓝染料迁移到凝胶的底部。将凝胶从盒中取出,在水中洗涤,并用SYBRTM金核酸凝胶染色剂(赛默飞世尔科技公司,目录号S11494)染色持续5-10分钟。在水中短暂洗涤之后,凝胶在UV光下可视化,并使用 I_{RIGHT} TM系统(赛默飞世尔科技公司)捕获图像。使用 $A_{LPHA}V_{IE}$ TM软件(ProteinSimple)确定封端效率以测量快速和慢速迁移转录物(封端转录物比未封端转录物长;因此未封端迁移更快)的带强度。

[0375] 结果

[0376] 来自许多实验的结果在图20以及表6至8中所示。

表 4: 用于模板产生的正向底物		
ID	序列	SEQ ID NO:
HB-WT	AGTAATACGACTCACTATAGGGAGA ACATTGCTTCTGACACAAC	585
HB-WT-MOD	AGTAATACGACTCACTATAAGGAGA ACATTGCTTCTGACACAAC	586
HB-MOD2	AGTAATACGACTCACTATAGTGAGA ACATTGCTTCTGACACAAC	587
HB-MOD4	AGTAATACGACTCACTATAGCGAGA ACATTGCTTCTGACACAAC	588
HB-MOD29	AGTAATACGACTCACTATAGAGAGA ACATTGCTTCTGACACAAC	589
所有 PCR 反应的反向引物: GCCCTCTAGATCAACCACTTTGGCCCTCT (SEQ ID NO: 590)		

[0379] 表4列出了用于创建具有不同启动子修饰的GFP模板的PCR正向和反向引物

表 5: 启动子修饰和型号

编号	启动子型号	序列
1	野生型	TATA GGG
2	野生型修饰	TATA AGG
3	MOD2	TATA GTG
4	MOD4	TATA GCG
5	MOD26	TATG GTG
6	MOD27	TATA TTG
7	MOD28	TATT GTG
8	MOD29	TATA GAG

[0381] 表5列出了经修饰的启动子和其序列。序列中空格后的碱基是天然的+1位置。

表 6: 使用-1/+1 起始位点和 1:1 NTP 与三核苷酸 GAG 帽比率的 mRNA 产率和封端效率 (图 20)

模板	平均值 (ug)	标准偏差	封端平均%	标准偏差
HB-WT	89.15	1.48	53.765	2.74
HB-WT-MOD	89	2.12	91.415	0.90
HB-MOD2	89.95	2.05	82.3	2.28
HB-MOD4	87.65	4.45	73.75	0.11
HB-MOD29	94.15	1.63	77.5	1.20
HB-WT; 无帽	81.25	4.31	0	0
HB-WT 模板, ARCA 帽 (右侧数据)			71.93	0.38

[0382] 表6列出了在使用1:1 NTP与帽比率时,各种经修饰的启动子的IVT产率和封端效率。-1起始启动子、HB-MOD2、HB-MOD4和HB-MOD29产生高产率和高封端效率。

表 7: 使用具有不同三核苷酸 GAG 帽:NTP 比率的 HB-MOD2 启动子的 IVT 产率

启动子 帽:NTP 比率	产率 (ug)								
	混合物 1 6:1	混合物 2 4:1	混合物 3 2:1	混合物 4 1.5:1	混合物 5 1.1:1	混合物 6 1:1	混合物 7 0.8:1	混合物 8 0.5:1	混合物 9 无帽
HB-WT	52.9	83	86.4	84.5	86.8	91.7	85.1	86.4	82.8
HB-MOD2	28.8	44.6	89.8	70.2	92.5	97.7	89.9	85.4	80.5

表 8: 具有不同三核苷酸 GAG 帽:NTP 比率的 HB-MOD2 启动子的 IVT 封端效率

启动子 帽:NTP 比率	封端效率 (%)								
	混合物1 6:1	混合物2 4:1	混合物3 2:1	混合物4 1.5:1	混合物5 1.1:1	混合物6 1:1	混合物7 0.8:1	混合物8 0.5:1	混合物9 无帽
HB-WT	85.89	83.14	65.75	58.53	51.99	53.11	51.83	41.56	1
HB-MOD2	94.43	95.78	90.7	85.89	80.99	83.55	77.86	69.89	0

[0383] 分别如在表7和8中所示出的,具有经修饰的启动子的帽:NTP比率影响IVT产率和封端效率。

[0384] 所有以下文档均通过整体引用单独地并入本文:美国专利公开2018/0318409A1;美国专利公开2019/0351040;美国专利公开2018/0271970;美国专利公开2019/0054112;美国专利公开2019/0336595;美国专利公开2018/0311336;美国专利公开2018/0303929;PCT公开W0 2002/26891;PCT公开W0 1997/40104;PCT公开W0 1999/51702;PCT公开W0 2001/

21624;PCT公开WO 1999/14226;PCT公开WO 2018/085449;PCT公开WO 2017/070601;PCT公开WO 2019/202035;PCT公开WO 2020/002525;PCT公开WO 2019/193183;PCT公开WO 2019/115635;PCT公开WO 2019/038332;PCT公开WO 2019/008001;PCT公开WO 2018/167320;PCT公开WO 2018/115527;PCT公开WO 2018/115525;WO 2018/115507;PCT公开WO 2018/104538;PCT公开WO 2018/104540;美国专利第5,132,432号;美国专利第8,039,642号;美国专利第5,227,487号;美国专利第5,442,045号;美国专利第4,603,209号;美国专利第4,849,362号;美国专利第5,696,157号;美国专利第5,459,276号;美国专利第5,501,980号;美国专利第5,830,912号;美国专利第5,798,276号;美国专利第5,846,737号;美国专利第6,562,632号;美国专利第7,256,292号;美国专利第7,985,602号;美国专利第8,729,267号;美国专利第9,040,674号;美国专利第9,315,859号;美国专利第9,745,336号;美国专利第9,783,560号;美国专利第9,790,544号;美国专利第10,131,936;美国专利第6,977,305号;美国专利第6,974,873号;美国专利第6,664,047号;美国专利第4,774,339号;美国专利第4,810,636号;美国专利第4,714,763号;美国专利第5,187,288号;美国专利第5,248,782号;美国专利第5,274,113号;美国专利第5,433,896号;美国专利第4,981,977号;美国专利第5,268,486号;美国专利第5,569,587号;美国专利第5,569,766号;美国专利第5,486,616号;美国专利第5,627,027号;美国专利第5,808,044号;美国专利第5,877,310号;美国专利第6,002,003号;美国专利第6,004,536号;美国专利第6,008,373号;美国专利第6,043,025号;美国专利第6,162,931号;美国专利第6,130,101号;美国专利第6,229,055号;美国专利第6,339,392号;美国专利第5,451,343号;美国专利第6,716,979号;美国专利第6,127,134号;美国专利第6,130,094号;美国专利第6,133,445;美国专利第7,446,202号;美国专利第7,598,390号;美国专利第7,776,529号;美国专利第9,249,307号;美国专利第9,751,868号;美国专利第10,000,467号;美国专利第10,053,447号;美国专利第10,125,120号;美国专利第10,351,551号;美国专利第10,526,317;以及RICHARD P.HAUGLAND,《荧光探针和研究化学品的分子探针手册MOLECULAR PROBES HANDBOOK OF FLUORESCENT PROBES AND RESEARCH CHEMICALS)》(第11版,2010年1月)。

序列表

<110> LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION

<120> 三核苷酸帽类似物、其制备和用途

<130> LT01530PCT

<140>

<141>

<150> 63/197,607

<151> 2021-06-07

<150> 63/047,465

<151> 2020-07-02

<160> 597

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 1

Gly Tyr Ser Thr Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Glu Asp Pro

1 5 10 15

<210> 2

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 2

Gly Tyr Ser Thr Pro Pro Lys Thr Arg Arg Arg Pro

1 5 10

<210> 3

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 3

Gly Tyr Ser Thr Pro Gly Arg Lys Lys Arg

1 5 10

<210> 4

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 4

Gly Tyr Ser Thr Pro Arg Arg Asn Arg Arg Arg Arg Trp

1 5 10

<210> 5

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 5

Pro Asp Glu Val Lys Arg Lys Lys Lys Pro Pro Thr Ser Tyr Gly

1 5 10 15

<210> 6

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 6

Pro Arg Arg Arg Thr Lys Pro Pro Thr Ser Tyr Gly

1 5 10

<210> 7

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 7

Arg Lys Lys Arg Gly Pro Thr Ser Tyr Gly

1 5 10

<210> 8

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 8

Trp Arg Arg Arg Arg Asn Arg Arg Pro Thr Ser Tyr Gly

1 5 10

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 9

Gly Tyr Gly Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Glu Ala Pro Tyr Lys

1 5 10 15

Ala

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 10

Pro Ala Ala Lys Arg Val Lys Leu Asp

1 5

<210> 11

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 11

Arg Gln Arg Arg Asn Glu Leu Lys Arg Ser Pro

1 5 10

<210> 12

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 12

Lys Arg Pro Ala Ala Thr Lys Lys Ala Gly Gln Ala Lys Lys Lys Lys

1 5 10 15

<210> 13

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 13

Val Arg Lys Lys Arg Lys Thr Glu Glu Glu Ser Pro Leu Lys Asp Lys

1 5 10 15

Asp Ala Lys Lys Ser Lys Gln Glu

20

<210> 14

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 14

Arg Leu Arg Arg Asp Ala Gly Gly Arg Gly Gly Val Tyr Glu His Leu

1 5 10 15

Gly Gly Ala Pro Arg Arg Arg Lys

20

<210> 15

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 15

Lys Arg Lys Gly Asp Glu Val Asp Gly Val Asp Glu Cys Ala Lys Lys

1

5

10

15

Ser Lys Lys

<210> 16

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 16

Asn Gln Ser Ser Asn Phe Gly Pro Met Lys Gly Gly Asn Phe Gly Gly

1

5

10

15

Arg Ser Ser Gly Pro Tyr Gly Gly Gly Gly Gln Tyr Phe Ala Lys Pro

20

25

30

Arg Asn Gln Gly Gly Tyr

35

<210> 17

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 17

Gly Gly Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys

1

5

10

15

Ala Arg Lys Val Glu Ala Tyr Pro Lys Ala Trp

20

25

<210> 18

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 18

Gly Gly Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys

1 5 10 15

Lys Arg Ala Val Glu Ala Tyr Pro Lys Ala Trp

20 25

<210> 19

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 19

Gly Gly Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys

1 5 10 15

Lys Ala Lys Val Glu Ala Tyr Pro Lys Ala Trp

20 25

<210> 20

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 20

Gly Gly Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys

1 5 10 15

Lys Arg Lys Val Glu Ala Pro Tyr Lys Ala Trp Lys

20 25

<210> 21

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 21

Gly	Gly	Lys	Arg	Thr	Ala	Asp	Gly	Ser	Glu	Phe	Glu	Ser	Pro	Lys	Lys
1				5				10					15		
Lys	Arg	Lys	Val	Glu	Tyr	Lys	Ala	Trp	Lys						
			20					25							

<210> 22

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 22

Gly	Tyr	Gly	Pro	Ala	Ala	Lys	Arg	Val	Lys	Leu	Asp	Glu	Ala	Tyr	Pro
1				5				10					15		
Lys	Ala	Trp	Lys												
			20												

<210> 23

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 23

Gly	Gly	Lys	Arg	Thr	Ala	Asp	Gly	Ser	Glu	Phe	Glu	Pro	Ala	Ala	Lys
1				5				10					15		
Arg	Val	Lys	Leu	Asp	Glu	Ala	Tyr	Pro	Lys	Ala	Trp	Lys			
			20					25							

<210> 24

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 24

Gly Thr Gly Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Gly Gly Gly Gly Tyr Gly
1 5 10 15
Pro Lys Lys Lys Arg Leu Val Gly
20

<210> 25

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 25

Lys Arg Pro Ala Ala Thr Lys Lys Ala Gly Gln Ala Lys Lys Lys Lys
1 5 10 15
Leu Glu Ala Tyr Pro Lys Ala Trp Lys
20 25

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 26

Ala Thr Lys Gly Thr Lys Arg Ser Tyr Glu Gln Met Glu Thr Gly Glu
1 5 10 15

<210> 27

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 27

Gly Lys Trp Glu Arg Lys Pro Ile Arg Cys Ala Ser
1 5 10

<210> 28

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 28

Gly	Tyr	Gly	Lys	Arg	Thr	Ala	Asp	Ser	Gln	His	Ser	Thr	Pro	Pro	Lys
1				5					10					15	
Lys	Lys	Arg	Lys	Val	Glu	Ala	Pro	Tyr	Lys	Ala	Trp	Lys			
			20					25							

<210> 29

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 29

Lys	Arg	Thr	Ala	Asp	Ser	Gln	His	Ser	Thr	Pro	Pro	Lys	Lys	Lys	Arg
1				5					10					15	
Lys	Val	Glu	Ala	Pro	Tyr	Lys	Ala	Trp	Lys						
			20					25							

<210> 30

<211> 46

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 30

Gly	Tyr	Gly	Pro	Pro	Lys	Lys	Lys	Arg	Lys	Val	Glu	Ala	Pro	Tyr	Lys
1				5				10						15	
Ala	Trp	Lys	Trp	Ala	Lys	Tyr	Pro	Ala	Met	Arg	Arg	Ala	His	His	Arg
			20					25					30		
Arg	Arg	Arg	Ala	Ser	His	Arg	Arg	Arg	Thr	Thr	Thr	Gly	Thr		
			35				40					45			

<210> 31

<211> 43

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 31

Gly Tyr Gly Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Glu Ala Pro Tyr Lys

1 5 10 15

Ala Trp Lys Arg Gly Ala Arg Arg Tyr Ser Lys Met Lys Arg Arg Arg

20 25 30

Arg Arg Val Ala Arg Arg His Arg Arg Arg Pro

35 40

<210> 32

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 32

Phe Trp Gly Tyr Gly Tyr Gly Pro Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Glu

1 5 10 15

Ala Pro Tyr Lys Ala Trp Lys

20

<210> 33

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 33

Gly Lys Pro Ser Ser Asp Asp Glu Ala Thr Ala Asp Ser Gln His Ser

1 5 10 15

Thr Pro Pro Lys Lys Lys Glu Arg Lys Val Glu Asp

20 25

<210> 34

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 34

Gly Lys Pro Thr Ala Asp Asp Gln His Ser Thr Pro Pro Lys Lys Lys

1 5 10 15

Arg Lys Val Glu Asp

20

<210> 35

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 35

Gly Gly Lys Arg Thr Ala Asp Gly Ser Glu Phe Glu Ser Pro Lys Lys

1 5 10 15

Ala Arg Lys Val Glu Ala Tyr Pro Lys Ala Lys

20

25

<210> 36

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 36

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Arg Lys Lys Arg Tyr Arg Leu Lys

1 5 10 15

His Leu

<210> 37

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 37

Pro Glu Gly Thr Arg Gln Ala Arg Arg Asn Arg Arg Arg Arg Trp Arg
1 5 10 15

Lys Arg

<210> 38

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 38

Pro Glu Gly Thr Arg Gln Pro Arg Arg Asn Arg Arg Arg Arg Trp Arg
1 5 10 15

Lys Arg

<210> 39

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 39

Gly Val Lys Arg Ser Tyr Gly Ala Ala Arg Gly Asp Asp Arg Arg Arg
1 5 10 15

Pro Asn Val Val Ala Pro Tyr Lys Ala Trp
20 25

<210> 40

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 40

Lys Ser Val Pro Asn Arg Thr Arg Thr Tyr Ile Lys Leu Lys Arg Leu
1 5 10 15

Arg Phe Lys Gly Ala Pro Tyr Lys Ala Trp
20 25

<210> 41

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 41

Glu Met Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Gly Leu Gln Leu Arg Lys Gln

1 5 10 15

Lys Arg Glu Glu Gln Leu Phe Lys Arg Arg Asn

20 25

<210> 42

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 42

Phe Glu Ala Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala

1 5 10

<210> 43

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 43

Leu Ala Arg Leu Leu Pro Arg Leu Leu Ala Arg Leu

1 5 10

<210> 44

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 44

Gly Leu Leu Glu Glu Leu Leu Glu Leu Leu Glu Glu Leu Trp Glu Glu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Gly

20

<210> 45

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 45

Gly Trp Glu Gly Leu Ile Glu Gly Ile Glu Gly Gly Trp Glu Gly Leu

1 5 10 15

Ile Glu Gly

<210> 46

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 46

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Ala Glu Phe Ile Glu Gly Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Leu Ile Glu Gly

20

<210> 47

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 47

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala

20

<210> 48

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 48

Gly Gly Tyr Cys Leu Glu Lys Trp Met Ile Val Ala Ser Glu Leu Lys

1 5 10 15

Cys Phe Gly Asn Thr Ala

20

<210> 49

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 49

Gly Gly Tyr Cys Leu Thr Arg Trp Met Leu Ile Glu Ala Glu Leu Lys

1 5 10 15

Cys Phe Gly Asn Thr Ala Val

20

<210> 50

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 50

Trp Glu Ala Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu His

1 5 10 15

Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu Glu Ala Leu Ala Ala

20 25 30

<210> 51

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 51

Gly Leu Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly

20

<210> 52

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 52

Gly Ile Gly Ala Val Leu Lys Val Leu Thr Thr Gly Leu Pro Ala Leu

1 5 10 15

Ile Ser Trp Ile Lys Arg Lys Arg Gln Gln

20

25

<210> 53

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 53

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Pro Gln

1 5 10

<210> 54

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 54

Arg Gln Ile Lys Ile Trp Phe Gln Asn Arg Arg Met Lys Trp Lys Lys
1 5 10 15

<210> 55

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 55

Gly Trp Thr Leu Asn Ser Ala Gly Tyr Leu Leu Gly Lys Ile Asn Leu
1 5 10 15
Lys Ala Leu Ala Ala Leu Ala Lys Lys Ile Leu
20 25

<210> 56

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 56

Trp Glu Ala Lys Leu Ala Lys Ala Leu Ala Lys Ala Leu Ala Lys His
1 5 10 15
Leu Ala Lys Ala Leu Ala Lys Ala Leu Lys Ala Cys Glu Ala
20 25 30

<210> 57

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 57

Gly Leu Phe Lys Ala Leu Leu Lys Leu Leu Lys Ser Leu Trp Lys Leu
1 5 10 15
Leu Leu Lys Ala
20

<210> 58

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 58

Gly Leu Phe Arg Ala Leu Leu Arg Leu Leu Arg Ser Leu Trp Arg Leu

1 5 10 15

Leu Leu Arg Ala

20

<210> 59

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 59

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Tyr Glu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala

20

<210> 60

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 60

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Glu Glu Leu Trp Glu Ala

1 5 10

<210> 61

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 61

Gly Leu Phe Leu Leu Glu Glu Trp Leu Glu

1 5 10

<210> 62

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 62

Gly Leu Phe Leu Leu Glu Glu Trp Leu Glu Lys

1 5 10

<210> 63

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 63

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Lys

20

<210> 64

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 64

Gly Leu Phe Lys Leu Leu Glu Glu Trp Leu Glu

1 5 10

<210> 65

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 65

Gly Leu Phe Lys Leu Leu Glu Glu Trp Leu Glu Lys

1 5 10

<210> 66

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 66

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Ala Glu Phe Ile Glu Gly Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Leu Ile Glu Gly

20

<210> 67

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 67

Gly Leu Phe Lys Ala Ile Ala Lys Phe Ile Lys Gly Gly Trp Lys Gly

1 5 10 15

Leu Ile Lys Gly

20

<210> 68

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 68

Ile Arg Phe Lys Lys Thr Lys Leu Ile Ala Ser Ile Ala Met Ala Leu
1 5 10 15

Cys

<210> 69

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 69

Ala Leu Ala Gly Thr Ile Ile Ala Gly Ala Ser Leu Thr Phe Gln Val
1 5 10 15
Leu Asp Lys Val Leu Glu Glu Leu Gly Lys Val Ser Arg Lys
20 25 30

<210> 70

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 70

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Glu Gly Phe Ile Glu Asn Gly Trp Glu Gly
1 5 10 15
Met Ile Asp Gly Trp Tyr Gly
20

<210> 71

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 71

Gly Tyr Ile Cys Arg Arg Ala Arg Gly Asp Asn Pro Asp Asp Arg Cys
1 5 10 15
Thr

<210> 72

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 72

Gly Leu Phe Glu Ala Ile Ala Glu Phe Ile Glu Gly Gly Trp Glu Gly

1 5 10 15

Leu Ile Glu Gly Cys Ala

20

<210> 73

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 73

Gly Leu Phe His Ala Ile Ala His Phe Ile His Gly Gly Trp His Gly

1 5 10 15

Leu Ile His Gly Trp Trp Tyr Gly

20

<210> 74

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 74

Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly Gly Asp Ile Met Gly Glu

1 5 10 15

Trp Gly Asn Glu Ile Phe Gly Ala Ile Ala Gly Phe Leu Gly

20 25 30

<210> 75

<211> 22

<212> PRT

<400> 78

Gly Leu Trp His Leu Leu Leu His Leu Trp Arg Arg Leu Leu Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 79

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 79

Lys Lys Ile Met Leu Leu Leu Met Thr Leu Leu Leu Val Ser Leu Pro
1 5 10 15

Leu Ala Gln Glu Gln

20

<210> 80

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 80

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Trp Tyr Gly

20

<210> 81

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 81

Arg Leu Leu Arg Leu Leu Leu Arg Leu Trp Arg Arg Leu Leu Arg Leu
1 5 10 15

Leu Arg

<210> 82

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 82

Leu Leu Glu Leu Glu Leu Leu Glu Leu Glu Leu Leu Leu Glu Leu Glu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Leu Glu Leu Leu Leu Glu Leu

20 25

<210> 83

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 83

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg

20 25

<210> 84

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 84

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg

20 25

<210> 85

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 85

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

20 25

<210> 86

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 86

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Lys Lys Lys Lys Lys Lys

20 25

<210> 87

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 87

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Lys Lys

20

<210> 88

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 88

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu
1 5 10 15
Leu Leu Glu Ala Lys Lys Lys Lys
20

<210> 89

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 89

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu
1 5 10 15
Leu Leu Glu Ala Glu Glu
20

<210> 90

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 90

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu
1 5 10 15
Leu Leu Glu Ala Glu Glu Glu Glu
20

<210> 91

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 91

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu
1 5 10 15

Leu Leu Glu Ala Glu Glu Glu Glu Glu Glu

20

25

<210> 92

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 92

Gly Leu Phe Glu Ala Leu Leu Glu Leu Leu Glu Ser Leu Trp Glu Leu

1

5

10

15

Leu Leu

<210> 93

<211> 36

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 93

Pro Leu Ser Ser Ile Phe Ser Arg Ile Gly Asp Pro Arg Gly Ala Arg

1

5

10

15

Arg Tyr Ala Lys Met Lys Arg Arg Arg Arg Arg Val Ala Arg Arg His

20

25

30

Arg Arg Arg Pro

35

<210> 94

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 94

Gly Pro Phe His Tyr Phe Gln Phe Leu Phe Pro Pro Val

1

5

10

<210> 95

<211> 13

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 95
Gly Ser Ser Ser Trp Trp Gln Arg Trp Trp Pro Pro Trp
1 5 10
<210> 96
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 96
Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg
1 5
<210> 97
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 97
Lys Lys Lys Lys
1
<210> 98
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 98
Lys Lys Lys Lys Lys Lys
1 5
<210> 99

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 99

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

1 5

<210> 100

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 100

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

1 5 10

<210> 101

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 101

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

1 5 10

<210> 102

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 102

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

1 5 10 15

<210> 103

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 103

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys

20

<210> 104

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 104

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

1 5 10 15

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

20

<210> 105

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 105

Arg Arg Arg Arg

1

<210> 106

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 106
Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5
<210> 107
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 107
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5
<210> 108
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 108
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10
<210> 109
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 109
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10
<210> 110
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 110
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15
<210> 111
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 111
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15
Arg Arg Arg Arg
20
<210> 112
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 112
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
20
<210> 113
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 113
Tyr Lys Ala

1

<210> 114

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 114

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Trp Lys Gly Gly Gly Gly Ala Cys

1 5 10 15

Tyr Gly Leu Pro His Leu Phe Cys Gly

20 25

<210> 115

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 115

Tyr Lys Ala Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Trp Lys

1 5 10

<210> 116

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 116

Lys Thr Pro Lys Lys Ala Lys Lys Pro Lys Thr Pro Lys Lys Ala Lys

1 5 10 15

Lys Pro

<210> 117

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 117

Lys Lys Ala Lys Lys Pro Ala Ala Thr Arg Lys Ser Ser Lys Asn Pro

1 5 10 15

Lys Lys Pro Lys Thr Val Lys Pro Lys Lys Val Ala Lys

20 25

<210> 118

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 118

Arg Gly Ala Arg Arg Tyr Ser Lys Met Lys Arg Arg Arg Arg Val

1 5 10 15

Ala Arg Arg His Arg Arg Arg Pro

20

<210> 119

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 119

Thr Arg Gln Ala Arg Arg Asn Arg Arg Arg Arg Trp Arg Glu Arg Gln

1 5 10 15

Arg Gly Ser Gly Ser Gly

20

<210> 120

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 120

Lys Arg Pro Arg Gly Arg Pro Lys Gly Ser Lys Lys Asn Trp Arg Arg
 1 5 10 15

Arg Lys Arg Arg Ala Ser Arg Arg Ser Pro Arg Arg Arg
 20 25

<210> 121

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 121

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

Glu Val Pro Thr Pro Lys Arg Pro Arg Gly Arg Pro Lys Gly Ser Lys
 20 25 30

Asn Lys

<210> 122

<211> 33

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 122

Lys Glu Lys Tyr Glu Lys Asp Ile Ala Ala Tyr Arg Ala Lys Gly Lys
 1 5 10 15

Pro Ala Ala Lys Lys Gly Val Val Lys Ala Glu Lys Ser Lys Lys Lys
 20 25 30

Lys

<210> 123

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 123

Tyr Lys Ala Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Trp Lys

1	5	10	15
<210> 124			
<211> 10			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 124			
Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Gly Gly Cys			
1	5	10	
<210> 125			
<211> 13			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 125			
Tyr Arg Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Trp Arg			
1	5	10	
<210> 126			
<211> 15			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 126			
Tyr Arg Ala Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Trp Arg			
1	5	10	15
<210> 127			
<211> 42			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”			
<400> 127			

Lys Gly Asp Pro Lys Lys Pro Arg Gly Lys Met Ser Ser Tyr Ala Phe
 1 5 10 15
 Phe Val Gln Thr Cys Arg Glu Glu His Lys Lys Lys His Pro Asp Ala
 20 25 30
 Ser Val Asn Phe Ser Glu Phe Ser Lys Lys
 35 40

<210> 128

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 128

Lys Lys Gln Leu Lys Lys Gln Leu Lys Lys Gln Leu Lys Gln Trp Lys
 1 5 10 15

<210> 129

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 129

Lys Lys Ser Pro Lys Lys Ser Pro Lys Lys Ser Pro Lys Lys Ser Lys
 1 5 10 15

<210> 130

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 130

Lys Leu Ser Lys Leu Glu Lys Lys Ser Lys Leu Glu Lys
 1 5 10

<210> 131

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 131

Lys Leu Ser Lys Leu Glu Lys Lys Leu Ser Lys Leu Glu Lys Lys Ser
1 5 10 15
Lys Leu Glu Lys
 20

<210> 132

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 132

Lys Ser Leu Lys Lys Ser Leu Lys Lys Ser Leu Lys Lys Ser Lys
1 5 10 15

<210> 133

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 133

Lys Ile Arg Arg Arg Gly Lys Asn Lys Val Ala Ala Arg Thr Cys Arg
1 5 10 15
Gln Arg Arg Thr Asp Arg
 20

<210> 134

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 134

Lys Ile Arg Arg Arg Gly Lys Asn Lys Val Ala Ala Gln Asn Cys Arg
1 5 10 15

Lys Arg Lys Leu Glu Thr
20

<210> 135

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 135

Lys Arg Arg Ile Arg Arg Glu Lys Asn Lys Met Ala Ala Ala Lys Cys
1 5 10 15

Arg Asn Arg Arg Arg Glu Leu Thr
20

<210> 136

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 136

Lys Asp Arg Ser Asn Leu Leu Glu Arg His Thr Arg
1 5 10

<210> 137

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 137

Lys Arg Pro Ala Ala Thr Lys Lys Ala Gly Gln Ala Lys Lys Lys Leu
1 5 10 15

<210> 138

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 138

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Glu

1 5 10

<210> 139

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 139

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Glu Glu Glu

1 5 10

<210> 140

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 140

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu

1 5 10

<210> 141

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 141

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Glu

1 5 10

<210> 142

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 142

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Glu Glu

1 5 10

<210> 143

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 143

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu

1 5 10 15

<210> 144

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 144

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Glu

1 5 10 15

<210> 145

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 145

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Glu Glu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Glu

<210> 146
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 146
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
1 5 10 15
Glu Glu
<210> 147
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 147
Lys Leu Ser Lys Leu Glu Lys Lys
1 5
<210> 148
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 148
Ser Lys Leu Glu Lys
1 5
<210> 149
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 149

Lys Leu Ser Lys Leu Glu Lys Lys Leu Ser Lys Leu Glu Lys Lys

1 5 10 15

<210> 150

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 150

Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Gly Gly Gly Arg Gly Asp Ser Pro

1 5 10 15

<210> 151

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 151

Leu Pro His Lys Ser Met Pro Cys Gly

1 5

<210> 152

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 152

Gly Ala Cys Leu Gln His Lys Ser Met Pro Cys Gly

1 5 10

<210> 153

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 153

Tyr Gly Leu Pro His Leu Phe Cys Gly

1 5

<210> 154

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 154

Ser Glu Arg Ser Met Asn Phe Cys Gly

1 5

<210> 155

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 155

Asp His Tyr Ser Leu Tyr Glu Asp Leu Glu Arg Gly Thr Asp Lys

1 5 10 15

<210> 156

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 156

Ile Ser Leu Pro Arg Thr Ser Gly Ala Gln Arg Ala Ser Thr Thr Arg

1 5 10 15

<210> 157

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 157

Glu Lys Leu Gln Thr Lys Tyr Gly Leu Pro His Lys Val Glu Phe Cys

1 5 10 15

Gly

<210> 158

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 158

Thr Arg Ile Ser Glu Ser Gln Ala Lys Pro Gly Asp

1 5 10

<210> 159

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 159

Leu Val Phe Phe Asp Tyr

1 5

<210> 160

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 160

Trp Gly Gly Asn Gly Pro Thr Thr Phe Asp Cys Ser Gly Tyr Thr Lys

1 5 10 15

Tyr Val Phe Ala Lys

20

<210> 161

<211> 15

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 161
Ile Asn Ile Gly Thr Thr Gly Trp Gly Asp His Tyr Ser Leu Tyr
1 5 10 15
<210> 162
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 162
Tyr Asp Asn Ile His Gly
1 5
<210> 163
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 163
Ala Gly Trp Gly Lys Phe Leu Val Gly Phe Gly Arg Val
1 5 10
<210> 164
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 164
Ser Ile Gly Tyr Pro Leu Pro
1 5
<210> 165

<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 165
Thr Thr His Trp Gly Phe Thr Leu
1 5
<210> 166
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 166
His Leu Gln Ile Gln Pro Tyr Pro Gln Ile Ser Gly
1 5 10
<210> 167
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 167
Lys Leu Asn Ile Val Ser Val Asn Gly
1 5
<210> 168
<211> 3
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 168
Arg Gly His
1

<210> 169

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 169

Asp Asn Arg Ile Arg Leu Gln Ala Lys Ala Ala

1 5 10

<210> 170

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 170

Lys Ile Lys Met Val Ile Ser Trp Lys Gly

1 5 10

<210> 171

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 171

Leu Pro Trp Tyr Ser Tyr Leu Tyr Ala Val Ser Ala

1 5 10

<210> 172

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 172

Trp Asn Leu Pro Trp Tyr Tyr Ser Val Ser Pro Thr

1	5	10
<210> 173		
<211> 3		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> source		
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”		
<400> 173		
Trp Asn Leu		
1		
<210> 174		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> source		
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”		
<400> 174		
Pro Trp Tyr Tyr Ser Val Ser Pro Thr		
1	5	
<210> 175		
<211> 14		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> source		
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”		
<400> 175		
Ser Ser Trp Glu Ser Tyr Lys Ser Gly Gly Gly Thr Arg Leu		
1	5	10
<210> 176		
<211> 18		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<221> source		
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”		
<400> 176		

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 180

Arg Ala Arg Arg Arg Lys Arg Ala Ser Ala Thr Gln Leu Tyr Gln Thr

1 5 10 15

Cys Lys Ala Ser Gly Thr Cys Pro Pro Asp

20 25

<210> 181

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 181

Ser Gly Asp Tyr Ser Phe Ala Leu Pro Val Gly Gln Trp Pro Trp Met

1 5 10 15

Thr Gly

<210> 182

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 182

Cys Thr Gly Gly Asp Tyr Ser Phe Ala Leu Pro Val Gly Gln Trp Pro

1 5 10 15

Trp

<210> 183

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 183

Phe Tyr Tyr Asp Tyr Asp Phe Phe Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
1 5 10 15

<210> 184

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 184

His Leu Arg Arg Leu Arg Arg Arg Leu Leu Arg Glu Ala Glu Gly
1 5 10 15

<210> 185

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 185

Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu Asn Gly Tyr Ser Val
1 5 10 15

Phe

<210> 186

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 186

Tyr Tyr Cys Leu Gln Ser Met Glu Asp Pro Tyr Thr Phe Gly Gly
1 5 10 15

<210> 187

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 187

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Asp Gly Asn Tyr Gly Tyr Tyr Tyr Ala Leu

1 5 10 15

Asp Tyr Asp Tyr

20

<210> 188

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 188

Ala Ala Arg Ser Pro Ser Tyr Tyr Arg Tyr Asp Tyr

1 5 10

<210> 189

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 189

Gly Pro Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Asp

1 5

<210> 190

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 190

Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr Glu Gly Gly Ala

1 5 10 15

Tyr Pro Lys Ala Trp Lys

20

<210> 191

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 191

Tyr Tyr Cys Gln Arg Tyr Asp Ser Asp Trp Ser Phe Gly Gln Gly Thr

1 5 10 15

Lys Leu

<210> 192

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 192

Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly Tyr Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln

1 5 10 15

Gly Thr

<210> 193

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 193

Arg Val Arg Arg Gly Ala Cys Arg Gly Asp Cys Leu Gly

1 5 10

<210> 194

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 194

Arg Val Arg Arg Gly Ala Cys Arg Tyr Asp Cys Leu Gly

1 5 10

<210> 195

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 195

Tyr Tyr Cys Ala Lys Gly Thr His Trp Gly Phe Trp Ser Gly Tyr Phe

1 5 10 15

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

20

<210> 196

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 196

Gly Arg Glu Asn Tyr His Gly Cys Thr Thr His Trp Gly Phe Thr Leu

1 5 10 15

Cys

<210> 197

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 197

Val Gln Ala Thr Gln Ser Asn Gln His Thr Pro Arg Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

Lys

<210> 198

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 198

Asp Pro Arg Ala Pro Gly Ser

1 5

<210> 199

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 199

Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Ser Ser Tyr Pro Tyr Thr Phe Gly Gly

1 5 10 15

<210> 200

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 200

Ala Ala Arg Ser Pro Ser Tyr Tyr Arg Tyr Asp Tyr Gly Pro Tyr Tyr

1 5 10 15

Ala Met Asp Tyr Asp

20

<210> 201

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 201

Gly Pro Lys Leu Thr Gly Ile Leu Ile Ser Ile Leu Ser Leu Phe Val

1	5	10	15
Glu Ser			
<210> 202			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 202			
Lys Tyr Ile Leu Arg Trp Arg Pro Lys Asn Ser			
1	5	10	
<210> 203			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 203			
Ile Lys Val Ala Val			
1	5		
<210> 204			
<211> 20			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 204			
Trp Thr Pro Pro Arg Ala Gln Ile Thr Gly Tyr Arg Leu Thr Val Gly			
1	5	10	15
Leu Thr Arg Arg			
	20		
<210> 205			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			

<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 205
Ala Ala Ser Ile Lys Val Ala Val Ser Ala Asp Arg
1 5 10
<210> 206
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 206
Lys Leu Asp Ala Pro Thr
1 5
<210> 207
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 207
Asn Arg Trp His Ser Ile Tyr Ile Thr Arg Phe Gly
1 5 10
<210> 208
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 208
Pro His Ser Arg Asn
1 5
<210> 209
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 209

Ser Ser Phe His Phe Asp Gly Ser Gly Tyr Ala Met

1

5

10

<210> 210

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 210

Arg Gly Asp Ser

1

<210> 211

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 211

Ile Ala Phe Gln Arg Asn

1

5

<210> 212

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 212

Gly Arg Gly Asp Ser Pro

1

5

<210> 213

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 213

Thr Trp Tyr Lys Ile Ala Phe Gln Arg Arg Lys

1 5 10

<210> 214

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 214

Glu Asp Gly Ile His Glu Leu

1 5

<210> 215

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 215

Ser Leu Val Arg Asn Arg Arg Val Ile Thr Ile Gln

1 5 10

<210> 216

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 216

Tyr Arg Val Arg Val Thr Pro Lys Glu Lys Thr Gly Pro Met Lys Glu

1 5 10 15

<210> 217

<211> 7

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 217
Leu Gln Val Gln Leu Ser Arg
1 5
<210> 218
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 218
Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr
1 5
<210> 219
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 219
Arg Lys Arg Leu Gln Val Gln Leu Ser Ile Arg Thr
1 5 10
<210> 220
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 220
Ala Thr Glu Thr Thr Ile Thr Ile Ser
1 5
<210> 221

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 221

Asn Ala Pro Phe Pro Lys Leu Ser Trp Thr Ile Gln

1 5 10

<210> 222

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 222

Val Ser Pro Pro Arg Arg Ala Arg Val Thr Asp Ala Thr Glu Thr Thr

1 5 10 15

Ile Thr Ile Ser Trp Arg Thr Lys Thr Glu Thr Ile Thr Gly Gly

20 25 30

<210> 223

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 223

Trp Thr Ile Gln Thr Thr Val Asp Arg Gly Leu Leu

1 5 10

<210> 224

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 224

Lys Pro Asp Val Arg Ser Tyr Thr Ile Thr Gly

1 5 10

<210> 225

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 225

Asp Thr Ile Asn Asn Gly Arg Asp His Met Ile Leu Ile

1 5 10

<210> 226

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 226

Ala Asn Gly Gln Thr Pro Ile Gln Arg Tyr Ile Lys

1 5 10

<210> 227

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 227

Met Ile Leu Ile Ser Ile Gly Lys Ser Gln Lys Arg Met

1 5 10

<210> 228

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 228

Pro Arg Ala Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu Lys Pro Gly
1 5 10 15
Ser Pro Pro Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg Pro Gly Val
 20 25 30

<210> 229

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 229

Pro Pro Phe Leu Met Leu Leu Lys Gly Ser Thr Arg
1 5 10

<210> 230

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 230

Trp Gln Pro Pro Arg Ala Arg Ile
1 5

<210> 231

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 231

Asn Gln Arg Leu Ala Ser Phe Ser Asn Ala Gln Gln Ser
1 5 10

<210> 232

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 232

Trp Gln Pro Pro Arg Ala Arg Ile Thr Gly Tyr Ile Ile Lys Tyr Glu

1 5 10 15

Lys Pro Gly

<210> 233

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 233

Ile Ser Asn Val Phe Val Gln Arg Met Ser Gln Ser Pro Glu Val Leu

1 5 10 15

Asp

<210> 234

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 234

Tyr Glu Lys Pro Gly Ser Pro Pro Arg Glu Val Val Pro Arg Pro Arg

1 5 10 15

Pro Gly Val

<210> 235

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 235

Lys Ala Arg Ser Phe Asn Val Asn Gln Leu Leu Gln Asp

1 5 10

<210> 236

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 236

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

<210> 237

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 237

Lys Asn Ser Phe Met Ala Leu Tyr Leu Ser Lys Gly
1 5 10

<210> 238

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 238

Glu Ile Leu Asp Val Pro Ser Thr
1 5

<210> 239

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 239

Lys Asn Ser Phe Met Ala Leu Tyr Leu Ser Lys Gly Arg Leu Val Phe

1	5	10	15
Ala Leu Gly			
<210> 240			
<211> 5			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 240			
Ile Asp Ala Pro Ser			
1	5		
<210> 241			
<211> 20			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 241			
Arg Asp Ser Phe Val Ala Leu Tyr Leu Ser Glu Gly His Val Ile Phe			
1	5	10	15
Ala Gly Leu Gly			
	20		
<210> 242			
<211> 15			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<221> source			
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”			
<400> 242			
Val Val Ile Asp Ala Ser Thr Ala Ile Asp Ala Pro Ser Asn Leu			
1	5	10	15
<210> 243			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			

<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 243
Lys Pro Arg Leu Gln Phe Ser Leu Asp Ile Gln Thr
1 5 10
<210> 244
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 244
Leu Asp Val Pro Ser
1 5
<210> 245
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 245
Asp Gly Gln Trp His Ser Val Thr Val Ser Ile Lys
1 5 10
<210> 246
<211> 4
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 246
Arg Glu Asp Val
1
<210> 247
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 247

Phe Val Leu Tyr Leu Gly Ser Lys Asn Ala Lys Lys

1 5 10

<210> 248

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 248

Pro His Ser Arg Asn Arg Gly Asp Ser Pro

1 5 10

<210> 249

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 249

Leu Ala Ile Lys Asn Asp Asn Leu Val Tyr Val Tyr

1 5 10

<210> 250

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 250

Leu Trp Val Thr Val Arg Ser Gln Gln Arg Gly Leu Phe

1 5 10

<210> 251

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 251

Ala Tyr Phe Ser Ile Val Lys Ile Glu Arg Val Gly

1 5 10

<210> 252

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 252

Gly Thr Asn Asn Trp Trp Gln Ser Pro Ser Ile Gln Asn

1 5 10

<210> 253

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 253

Asp Val Ile Ser Leu Tyr Asn Phe Lys His Ile Tyr

1 5 10

<210> 254

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 254

Trp Val Thr Val Thr Leu Asp Leu Arg Gln Val Phe Gln

1 5 10

<210> 255

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 255

Phe Phe Asp Gly Ser Ser Tyr Ala Val Val Arg Asp

1 5 10

<210> 256

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 256

Arg Gln Val Phe Gln Val Ala Tyr Ile Ile Ile Lys Ala

1 5 10

<210> 257

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 257

Leu His Val Phe Tyr Asp Phe Gly Phe Gly Phe Ser Asn Gly

1 5 10

<210> 258

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 258

Leu Thr Arg Tyr Lys Ile Thr Pro Arg Arg Gly Pro Pro Thr

1 5 10

<210> 259

<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 259
Leu Lys Lys Ala Gln Ile Asn Asp Ala Lys Tyr Arg Glu Ile Ser Ile
1 5 10 15
Ile Tyr His Asn
20
<210> 260
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 260
Leu Leu Glu Phe Thr Ser Ala Arg Tyr Ile Arg Leu
1 5 10
<210> 261
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 261
Arg Ala Tyr Phe Asn Gly Gln Ser Phe Ile Ala Ser
1 5 10
<210> 262
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 262

Tyr Ile Arg Leu Arg Leu Gln Arg Ile Arg Thr Leu

1 5 10

<210> 263

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 263

Ser Arg Leu Arg Gly Lys Asn Pro Thr Lys Gly Lys

1 5 10

<210> 264

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 264

Arg Arg Tyr Tyr Tyr Ser Ile Lys Asp Ile Ser Val

1 5 10

<210> 265

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 265

Leu His Lys Lys Gly Lys Asn Ser Ser Lys Pro Lys

1 5 10

<210> 266

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 266

Ser Ile Asn Asn Thr Ala Val Asn Gln Arg Leu Thr

1 5 10

<210> 267

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 267

Arg Leu Lys Thr Arg Ser Ser His Gly Met Ile Phe

1 5 10

<210> 268

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 268

Gly Gly Phe Leu Lys Tyr Thr Val Ser Tyr Asp Ile

1 5 10

<210> 269

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 269

Gly Glu Lys Ser Gln Phe Ser Ile Arg Leu Lys Thr

1 5 10

<210> 270

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 270
Arg Asp Gln Leu Met Thr Val Leu Ala Asn Val Thr
1 5 10
<210> 271
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 271
Thr Leu Phe Leu Ala His Gly Arg Leu Val Phe Met
1 5 10
<210> 272
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 272
Ala Asn Val Thr His Leu Leu Ile Arg Ala Asn Tyr
1 5 10
<210> 273
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 273
Leu Val Phe Met Phe Asn Val Gly His Lys Lys Leu
1 5 10
<210> 274
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 274
Ala Gly Thr Phe Ala Leu Arg Gly Asp Asn Pro Gln Gly
1 5 10
<210> 275
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 275
Thr Leu Phe Leu Ala His Gly Arg Leu Val Phe Met Phe Asn Val Gly
1 5 10 15
His Lys Lys Leu
20
<210> 276
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 276
Val Leu Ile Lys Gly Gly Arg Ala Arg Lys His Val
1 5 10
<210> 277
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 277
Asp Phe Met Thr Leu Phe Leu Ala His Gly Arg Leu Val Phe Met Gly
1 5 10 15
Asn Val Gly
<210> 278

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 278
Leu Ser Asn Ile Asp Tyr Leu Ile Lys Ala Ser
1 5 10
<210> 279
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 279
His Lys Lys Leu Lys Ile Arg Ser Gln Glu Lys Tyr
1 5 10
<210> 280
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 280
Leu Gln Gln Ser Arg Ile Ala Asn Ile Ser Met Glu
1 5 10
<210> 281
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 281
Gly Ala Ala Trp Lys Ile Lys Gly Pro Ile Tyr Leu
1 5 10

<210> 282

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 282

Asn Leu Leu Leu Leu Leu Val Lys Ala Asn Leu Lys

1 5 10

<210> 283

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 283

Val Ile Arg Asp Ser Asn Val Val Gln Leu Asp Val

1 5 10

<210> 284

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 284

His Arg Asp Glu Leu Leu Leu Trp Ala Arg Lys Ile

1 5 10

<210> 285

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 285

Gly Leu Ile Tyr Tyr Val Ala His Gln Asn Gln Met

1 5 10
<210> 286
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 286

Lys Arg Arg Ala Arg Asp Leu Val His Arg Ala Glu

1 5 10
<210> 287
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 287

Asp Tyr Ala Thr Leu Gln Leu Gln Glu Gly Arg Leu His Phe Met Phe

1 5 10 15
Asp Leu Gly
<210> 288
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 288

Ser Gln Phe Gln Glu Ser Val Asp Asn Ile Thr Lys

1 5 10
<210> 289
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 289

Lys Lys Gly Ser Tyr Asn Asn Ile Val Val His Val

1 5 10

<210> 290

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 290

Pro Gly Gly Met Arg Glu Lys Gly Arg Lys Ala Arg

1 5 10

<210> 291

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 291

Ala Asp Asn Leu Leu Phe Tyr Leu Gly Ser Ala Lys

1 5 10

<210> 292

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 292

Met Glu Met Gln Ala Asn Leu Leu Leu Asp Arg Leu

1 5 10

<210> 293

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 293

Gly Ser Ala Lys Phe Ile Asp Phe Leu Ala Ile Glu

1 5 10

<210> 294

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 294

Leu Ser Glu Ile Lys Leu Leu Ile Ser Ala Arg

1 5 10

<210> 295

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 295

Lys Val Ser Phe Leu Trp Trp Val Gly Ser Gly Val

1 5 10

<210> 296

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 296

Arg Asp Phe Thr Lys Ala Thr Asn Ile Arg Leu Arg Phe Leu Arg

1 5 10 15

<210> 297

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 297
Ser Tyr Trp Tyr Arg Ile Glu Ala Ser Arg Thr Gly
1 5 10
<210> 298
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 298
Ile Ser Thr Val Met Phe Lys Phe Arg Thr Phe Ser
1 5 10
<210> 299
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 299
Tyr Phe Asp Gly Thr Gly Phe Ala Lys Ala Val Gly
1 5 10
<210> 300
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 300
Lys Gln Ala Asn Ile Ser Ile Val Asp Ile Asp Ser Asn
1 5 10
<210> 301
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 301
Asn Gly Gln Trp His Lys Val Thr Ala Lys Lys Ile
1 5 10
<210> 302
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 302
Phe Ser Thr Arg Asn Glu Ser Gly Ile Ile Leu Leu
1 5 10
<210> 303
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 303
Ala Lys Lys Ile Lys Asn Arg Leu Glu Leu Val Val
1 5 10
<210> 304
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 304
Arg Arg Gln Thr Thr Gln Ala Tyr Tyr Ala Ile Phe
1 5 10
<210> 305
<211> 14
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 305

Gly Phe Pro Gly Gly Leu Asn Gln Phe Gly Leu Thr Thr Asn

1 5 10

<210> 306

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 306

Tyr Ala Ile Phe Leu Asn Lys Gly Arg Leu Glu Val

1 5 10

<210> 307

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 307

Asn Gln Phe Gly Leu Thr Thr Asn Ile Arg Phe Arg Gly

1 5 10

<210> 308

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 308

Lys Asn Arg Leu Thr Ile Glu Leu Glu Val Arg Thr

1 5 10

<210> 309

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 309

Ile Arg Ser Leu Lys Leu Thr Lys Gly Thr Gly Lys Pro

1 5 10

<210> 310

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 310

Gly Leu Leu Phe Tyr Met Ala Arg Ile Asn His Ala

1 5 10

<210> 311

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 311

Ala Lys Ala Leu Glu Leu Arg Gly Val Gln Pro Val Ser

1 5 10

<210> 312

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 312

Val Gln Leu Arg Asn Gly Phe Pro Tyr Phe Ser Tyr

1 5 10

<210> 313

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 313

Gly Gln Leu Phe His Val Ala Tyr Ile Leu Ile Lys Phe

1 5 10

<210> 314

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 314

His Lys Ile Lys Ile Val Arg Val Lys Gln Glu Gly

1 5 10

<210> 315

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 315

Asn Val Leu Ser Leu Tyr Asn Phe Lys Thr Thr Phe

1 5 10

<210> 316

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 316

Asp Phe Gly Thr Val Gln Leu Arg Asn Gly Phe Pro Phe Phe Ser Tyr

1 5 10 15

Asp Leu Gly

<210> 317

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 317

Ser Gln Arg Ile Tyr Gln Phe Ala Lys Leu Asn Tyr Thr

1 5 10

<210> 318

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 318

Asn Ile Arg Leu Arg Phe Leu Arg Thr Asn Thr Leu

1 5 10

<210> 319

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 319

Glu Val Asn Val Thr Leu Asp Leu Gly Gln Val Phe His

1 5 10

<210> 320

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 320

Gly Lys Asn Thr Gly Asp His Phe Val Leu Tyr Met

1 5 10

<210> 321

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 321

Gly Gln Val Phe His Val Ala Tyr Val Leu Ile Lys Phe

1 5 10

<210> 322

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 322

Val Val Ser Leu Tyr Asn Phe Glu Gln Thr Phe Met Leu

1 5 10

<210> 323

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 323

His Gln Gln Asp Leu Gly Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser

1 5 10 15

Thr Met Phe Leu Phe

20

<210> 324

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 324

Arg Phe Asp Gln Glu Leu Arg Leu Val Ser Tyr Asn

1 5 10

<210> 325

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 325

His Gln Gln Asp Leu Gly Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser

1 5 10 15

Thr Met Phe Leu Phe Cys Asn Ile

20

<210> 326

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 326

Arg Leu Val Ser Tyr Ser Gly Val Leu Phe Phe Leu Lys

1 5 10

<210> 327

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 327

Val Ala Glu Ile Asp Gly Ile Glu Leu

1 5

<210> 328

<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 328
Asn Trp Arg His Ile Ser Tyr Ile Thr Arg Phe Gly
1 5 10
<210> 329
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 329
Gly Ile Ile Phe Phe Leu
1 5
<210> 330
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 330
Lys Arg Leu Gln Val Gln Leu Arg Ser Ile Arg Thr
1 5 10
<210> 331
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 331
Ala Ser Lys Ala Ile Gln Val Phe Leu Leu Gly Gly
1 5 10
<210> 332

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 332
Thr Trp Tyr Lys Ile Ala Phe Gln Arg Asn Arg Lys
1 5 10
<210> 333
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 333
Val Leu Val Arg Val Glu Arg Ala Thr Val Phe Ser
1 5 10
<210> 334
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 334
Gln Val Phe Gln Val Ala Tyr Ile Ile Ile Lys Ala
1 5 10
<210> 335
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 335
Thr Val Phe Ser Val Asp Gln Asp Asn Met Leu Glu
1 5 10

<210> 336

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 336

Gly Glu Phe Tyr Phe Asp Leu Arg Leu Lys Gly Asp Lys

1 5 10

<210> 337

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 337

Arg Leu Arg Gly Pro Gln Arg Val Phe Asp Leu His

1 5 10

<210> 338

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 338

Gly Thr Pro Gly Pro Gln Gly Ile Ala

1 5

<210> 339

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 339

Phe Asp Leu His Gln Asn Met Gly Ser Val Asn

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

<210> 340
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 340
Gly Gln Arg Asp Val Val
1 5
<210> 341
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 341
Leu Arg Ala His Ala Val Asp Val Asn Gly
1 5 10
<210> 342
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 342
Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser Thr Met
1 5 10
<210> 343
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 343

Leu Phe Ser His Ala Val Ser Ser Asn Gly

1 5 10

<210> 344

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 344

Lys Gly His Arg Gly Phe

1 5

<210> 345

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 345

Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser Thr Met Phe Leu Phe

1 5 10 15

<210> 346

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 346

Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser Thr Met Phe Leu Phe Cys

1 5 10 15

Asn Ile

<210> 347

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 347

Asp Leu Gly Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser Thr Met

1 5 10 15

<210> 348

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 348

His Gln Gln Asp Leu Gly Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser

1 5 10 15

Thr Met

<210> 349

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 349

Arg Asn Ile Ala Glu Ile Ile Lys Asp Ile

1 5 10

<210> 350

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 350

Ser Ile Gly Phe Arg Gly Asp Gly Gln Thr Cys

1 5 10

<210> 351

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 351

Leu Asn Arg Gln Glu Leu Phe Pro Phe Gly

1 5 10

<210> 352

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 352

Arg Ile Gln Asn Leu Leu Lys Ile Thr Asn Leu Arg Ile Lys Phe Val

1 5 10 15

Lys

<210> 353

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 353

Lys Lys Gln Arg Phe Arg His Arg Asn Arg Lys Gly Tyr Arg Ser Gln

1 5 10 15

<210> 354

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 354

Ser Ile Asn Asn Thr Ala Val Met Gln Arg Leu Thr

1 5 10

<210> 355

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 355

Phe Arg His Arg Asn Arg Lys Gly Tyr

1 5

<210> 356

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 356

Arg Tyr Arg Val Arg Val Thr Pro Lys Glu Lys Thr Gly Pro Met Lys

1 5 10 15

Glu

<210> 357

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 357

Ser Glu Thr Thr Val Lys Tyr Ile Phe Arg Leu His Glu

1 5 10

<210> 358

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 358

Gly His Arg Gly Pro Thr Gly Arg Pro Gly Lys Arg Gly Lys Gln Gly

1 5 10 15

Gln Lys Gly Asp Ser

20

<210> 359

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 359

Lys Ala Phe Asp Ile Thr Tyr Val Arg Leu Lys Phe

1

5

10

<210> 360

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 360

Gly Asp Leu Gly Arg Pro Gly Arg Lys Gly Arg Pro Gly Pro Pro

1

5

10

15

<210> 361

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 361

Tyr Ile Gly Ser Arg

1

5

<210> 362

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 362

Arg Gly Glu Phe Tyr Phe Asp Leu Arg Leu Lys Gly Asp Lys

1 5 10

<210> 363

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 363

Leu Ala Gly Ser Cys Leu Ala Arg Phe Ser Thr Met

1 5 10

<210> 364

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 364

Leu Ala Leu Phe Leu Ser Asn Gly His Phe Val Ala

1 5 10

<210> 365

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 365

Ile Ser Arg Cys Gln Val Cys Met Lys Lys Arg His

1 5 10

<210> 366

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 366

Pro Gly Arg Trp His Lys Val Ser Val Arg Trp Glu

1 5 10

<210> 367

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 367

Thr Asp Ile Pro Pro Cys Pro His Gly Trp Ile Ser Leu Trp Lys

1 5 10 15

<210> 368

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 368

Val Arg Trp Gly Met Gln Gln Ile Gln Leu Val Val

1 5 10

<210> 369

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 369

Thr Ala Ile Pro Ser Cys Pro Glu Gly Thr Val Pro Leu Tyr Ser

1 5 10 15

<210> 370

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 370
Lys Met Pro Tyr Val Ser Leu Glu Leu Glu Met Arg
1 5 10
<210> 371
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 371
Gly Pro Ala Gly Lys Asp Gly Glu Ala Gly Ala Gln Gly
1 5 10
<210> 372
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 372
Val Leu Leu Gln Ala Asn Asp Gly Ala Gly Glu Phe
1 5 10
<210> 373
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 373
Gly Leu Pro Gly Glu Arg
1 5
<210> 374
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 374

Asp Gly Arg Trp His Arg Val Ala Val Ile Met Gly

1 5 10

<210> 375

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 375

Leu Ala Gly Ser Cys Leu Pro Val Phe Ser Thr Leu

1 5 10

<210> 376

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 376

Ala Pro Val Asn Val Thr Ala Ser Val Gln Ile Gln

1 5 10

<210> 377

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 377

Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Arg Phe Ser Thr Met

1 5 10

<210> 378

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 378

Lys Gln Gly Lys Ala Leu Thr Gln Arg His Ala Lys

1 5 10

<210> 379

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 379

Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe

1 5

<210> 380

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 380

Arg Tyr Val Val Leu Pro Arg

1 5

<210> 381

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 381

Thr Ala Gly Ser Cys Leu

1 5

<210> 382

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 382

Ser Pro Tyr Thr Phe Ile Asp Ser Leu Val Leu Met Pro Tyr

1 5 10

<210> 383

<211> 3

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 383

Thr Ala Gly

1

<210> 384

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 384

Pro Asp Ser Gly Arg

1 5

<210> 385

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 385

Gln Gln Asn Leu Gly Ser Val Asn Val Ser Thr Gly

1 5 10

<210> 386

<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 386
Ser Arg Ala Thr Ala Gln Lys Val Ser Arg Arg Ser
1 5 10
<210> 387
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 387
Asp Pro Gly Tyr Ile Gly Ser Arg
1 5
<210> 388
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 388
Gly Ser Leu Ser Ser His Leu Glu Phe Val Gly Ile
1 5 10
<210> 389
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 389
Val Ile Leu Gln Gln Ser Ala Ala Asp Ile Ala Arg
1 5 10

<210> 390

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 390

Arg Asn Arg Leu His Leu Ser Met Leu Val Arg Pro

1 5 10

<210> 391

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 391

Lys Asp Ile Ser Glu Lys Val Ala Val Tyr Ser Thr

1 5 10

<210> 392

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 392

Ala Pro Met Ser Gly Arg Ser Pro Ser Leu Val Leu Lys

1 5 10

<210> 393

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 393

Leu Gly Thr Ile Pro Gly

1 5
<210> 394
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 394
Ala Phe Gly Val Leu Ala Leu Trp Gly Thr Arg Val
1 5 10
<210> 395
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 395
Thr Asp Ile Arg Val Thr Leu Asn Arg Leu Asn Thr Phe
1 5 10
<210> 396
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 396
Ile Glu Asn Val Val Thr Thr Phe Ala Pro Asn Arg
1 5 10
<210> 397
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 397

Ala Phe Ser Thr Leu Glu Gly Arg Pro Ser Ala Tyr
1 5 10
<210> 398
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 398
Leu Glu Ala Glu Phe His Phe Thr His Leu Ile Met
1 5 10
<210> 399
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 399
Thr Ser Ala Glu Ala Tyr Asn Leu Leu Leu Arg Thr
1 5 10
<210> 400
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 400
His Leu Ile Met Thr Phe Lys Thr Phe Arg Pro Ala
1 5 10
<210> 401
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 401

Leu Asn Arg Arg Tyr Glu Gln Ala Arg Asn Ile Ser

1 5 10

<210> 402

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 402

Lys Thr Trp Gly Val Tyr Arg Tyr Phe Ala Tyr Asp

1 5 10

<210> 403

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 403

Ser Leu Leu Ser Gln Leu Asn Asn Leu Leu Asp Gln

1 5 10

<210> 404

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 404

Thr Asn Leu Arg Ile Lys Phe Val Lys Leu His Thr

1 5 10

<210> 405

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 405

Arg Asp Ile Ala Glu Ile Ile Lys Asp Ile

1 5 10

<210> 406

<211> 8

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 406

Lys Arg Leu Val Thr Gly Gln Arg

1 5

<210> 407

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 407

Ser His Ala Val Ser Ser

1 5

<210> 408

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 408

Gly Pro Gly Val Val Val Val Glu Arg Gln Tyr Ile

1 5 10

<210> 409

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 409
Ala Asp Thr Pro Pro Val
1 5
<210> 410
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 410
Asn Glu Pro Lys Val Leu Lys Ser Tyr Tyr Tyr Ala Ile
1 5 10
<210> 411
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 411
Leu Arg Ala His Ala Val Asp Ile Asn Gly
1 5 10
<210> 412
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 412
Tyr Tyr Ala Ile Ser Asp Phe Ala Val Gly Gly Arg
1 5 10
<210> 413
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 413

Asp Ser Ile Thr Lys Tyr Phe Gln Met Ser Leu Glu

1 5 10

<210> 414

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 414

Leu Pro Phe Phe Asn Asp Arg Pro Trp Arg Arg Ala Thr

1 5 10

<210> 415

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 415

Tyr Thr Ala Leu Ile Ile Ala Thr Asp Asn

1 5 10

<210> 416

<211> 14

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 416

Phe Asp Pro Glu Leu Tyr Arg Ser Thr Gly His Gly Gly His

1 5 10

<210> 417

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 417

Val Ile Thr Val Lys Asp Ile Asn Asp Asn

1 5 10

<210> 418

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 418

Thr Asn Ala Val Gly Tyr Ser Val Tyr Asp Ile Ser

1 5 10

<210> 419

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 419

Gly Leu Asp Arg Glu Ser Tyr Pro Tyr Tyr

1 5 10

<210> 420

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 420

Ala Pro Val Lys Phe Leu Gly Asn Gln Val Leu Ser Tyr

1 5 10

<210> 421

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 421

Met Lys Val Ser Ala Thr Asp Ala Asp Asp

1 5 10

<210> 422

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 422

Ser Phe Ser Phe Arg Val Asp Arg Arg Asp Thr Arg

1 5 10

<210> 423

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 423

Pro Gln Val Thr Arg Gly Asp Val Phe Thr Met Pro

1 5 10

<210> 424

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 424

Thr Trp Ser Lys Val Gly Gly His Leu Arg Pro Gly Ile Val Gln Ser

1 5 10 15

Gly

<210> 425

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 425

Lys Glu Ala Glu Arg Glu Val Thr Asp Leu Leu Arg

1 5 10

<210> 426

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 426

Arg Gly Asp Val

1

<210> 427

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 427

Ala Ala Glu Pro Leu Lys Asn Ile Gly Ile Leu Phe

1 5 10

<210> 428

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 428

Phe Ala Leu Trp Asp Ala Ile Ile Gly Glu Leu

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

<210> 429
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 429
Val Gly Val Ala Pro Gly
1 5
<210> 430
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 430
Leu Trp Pro Leu Leu Ala Val Leu Ala Ala Val Ala
1 5 10
<210> 431
<211> 5
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 431
Pro Gly Val Gly Val
1 5
<210> 432
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 432

Val Phe Asp Asn Phe Val Leu Lys

1 5

<210> 433

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 433

Thr Ser Ile Lys Ile Arg Gly Thr Tyr Ser Glu Arg

1 5 10

<210> 434

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 434

Thr Thr Ser Trp Ser Gln Cys Ser Lys Ser

1 5 10

<210> 435

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 435

Asp Pro Glu Thr Gly Val

1 5

<210> 436

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 436

Lys Arg Ser Arg

1

<210> 437

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 437

Gln Gly Ala Asp Thr Pro Pro Val Gly Val

1

5

10

<210> 438

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 438

Ser Val Val Tyr Gly Leu Arg

1

5

<210> 439

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 439

Pro Leu Asp Arg Glu Ala Ile Ala Lys Tyr

1

5

10

<210> 440

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 440

Asp Gly Arg Gly Asp Ser Val Ala Tyr Gly

1 5 10

<210> 441

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 441

His Ala Val Asp Ile

1 5

<210> 442

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 442

Leu Ala Leu Glu Arg Lys Asp His Ser Gly

1 5 10

<210> 443

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 443

Asp Gln Asn Asp Asn

1 5

<210> 444

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 444

Tyr Ser Met Lys Lys Thr Thr Met Lys Ile Ile Pro Phe Asn Arg Leu

1 5 10 15

Thr Ile Gly

<210> 445

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 445

Gln Asp Pro Glu Leu Pro Asp Lys Asn Met

1 5 10

<210> 446

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 446

Arg Gly Asp Phe

1

<210> 447

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 447

Leu Val Val Gln Ala Ala Asp Leu Gln Gly

1 5 10

<210> 448

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 448

Gly Val Tyr Tyr Gln Gly Gly Thr Tyr Ser Lys Ala Ser

1 5 10

<210> 449

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 449

Asn Asp Asp Gly Gly Gln Phe Val Val Thr

1 5 10

<210> 450

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 450

Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser Cys Leu

1 5 10

<210> 451

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 451

Tyr Ile Leu His Val Ala Val Thr Asn

1 5

<210> 452

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 452

Cys Asn Tyr Tyr Ser Asn Ser Tyr Ser Phe Trp Leu Ala Ser Leu Asn

1 5 10 15

Pro Glu Arg

<210> 453

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 453

Thr Tyr Arg Ile Trp Arg Asp Thr Ala Asn

1 5 10

<210> 454

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 454

Thr Gly Leu Ser Cys Leu Gln Arg Phe Thr Thr Met

1 5 10

<210> 455

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 455

Gly Phe Thr Cys Glu Cys Ser Ile Gly Phe Arg Gly Asp Gly Gln Thr

1 5 10 15

Cys Tyr Gly Ile Val Phe Trp Ser Glu Val
20 25

<210> 456

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 456

His His Leu Gly Gly Ala Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10

<210> 457

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 457

Ser Cys Leu Pro Gly Phe Ser Gly Asp Gly Arg Ala Cys Arg Asp Val
1 5 10 15

Asp Glu Cys Gly His
20

<210> 458

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 458

Met Ala Pro Arg Pro Ser Leu Ala Lys Lys Gln Arg Phe Arg His Arg
1 5 10 15

Asn Arg Lys Gly Tyr Arg Ser Gln Arg Gly His Ser Arg Gly
20 25 30

<210> 459

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 459

Lys Lys Gln Lys Phe Arg His Arg Asn Arg Lys Gly Tyr Arg Ser Gln

1 5 10 15

<210> 460

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 460

Lys Lys Gln Lys Phe Lys His Arg Asn Arg Lys Gly Tyr Arg Ser

1 5 10 15

<210> 461

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 461

Lys Lys Gln Lys Phe Arg Arg Arg Asn Arg Lys Gly Tyr Arg Ser His

1 5 10 15

<210> 462

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 462

Thr Ala Ile Pro Pro Cys Pro His Gly Trp Ile Ser Leu Trp Lys

1 5 10 15

<210> 463

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 463

Lys Lys Gln Lys Ser Arg His Arg Ser Arg Lys Arg Tyr Arg Ser
1 5 10 15

<210> 464

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 464

Lys Lys Gln Lys Ser Arg Arg Arg Ser Arg Lys Gly Tyr Arg Ser
1 5 10 15

<210> 465

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 465

Ile Ser Arg Cys Thr Val Cys
1 5

<210> 466

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 466

Ile Ser Arg Cys Gln Val Cys Met Lys Arg Arg His
1 5 10

<210> 467

<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 467
Val Ser Arg Cys Thr Val Cys
1 5
<210> 468
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 468
Thr Asp Ile Pro Pro Cys Pro Gln Gly Trp Ile Ser Leu Trp Lys
1 5 10 15
<210> 469
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 469
Thr Val Lys Ala Gly Glu Leu Glu Lys Ile Ile Ser Arg Cys Gln Val
1 5 10 15
Met Lys Lys Arg His
20
<210> 470
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 470

Thr Asp Ile Pro Ser Cys Pro His Gly Trp Ile Ser Leu Trp Lys
1 5 10 15
<210> 471
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 471
Thr Asp Ile Pro Pro Cys Pro Ala Gly Trp Ile Ser Leu Trp Lys
1 5 10 15
<210> 472
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 472
Thr Glu Ile Pro Pro Cys Pro Gln Gly Trp Ile Ser Leu Trp Lys
1 5 10 15
<210> 473
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 473
Thr Asp Val Pro Pro Cys Pro Gln Gly Trp Ile Ser Leu Trp Lys
1 5 10 15
<210> 474
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 474

Arg Leu Val Ser Tyr Asn Gly Ile Leu Phe Phe Leu Lys

1 5 10

<210> 475

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 475

Arg Leu Val Ser Tyr Ser Gly Val Ile Phe Phe Leu Lys

1 5 10

<210> 476

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 476

Arg Leu Val Ser Tyr Asn Gly Ile Leu Phe Phe Leu

1 5 10

<210> 477

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 477

Arg Leu Val Ser Tyr Ser Gly Ile Ile Phe Phe Leu Lys

1 5 10

<210> 478

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 478

Arg Phe Glu Gln Glu Leu Arg Leu Val Ser Tyr Ser Gly Val Leu Phe

1 5 10 15

Phe Leu Lys Gln

20

<210> 479

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 479

Arg Leu Val Ser Tyr Asn Gly Ile Ile Phe Phe Leu Lys

1 5 10

<210> 480

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 480

Asp Pro Ala Phe Lys Ile Glu Asp Pro Tyr Ser Pro Arg Ile Gln Asn

1 5 10 15

Leu Leu Lys Ile Thr Asn Leu Arg Ile Lys Phe Val Lys Leu

20 25 30

<210> 481

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 481

Thr Lys Arg Phe Glu Gln Glu Leu Arg Leu Val Ser Tyr Ser Gly Val

1 5 10 15

Leu Phe Phe Leu

20

<210> 482

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 482

Gly Gly Arg Leu Lys Tyr Ser Val Ala Phe

1 5 10

<210> 483

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 483

Gly Gly Phe Leu Arg Tyr Thr Val Ser Tyr Asp Ile

1 5 10

<210> 484

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 484

Gly Gly Phe Leu Lys Tyr Thr Val Ser Tyr Asp Val

1 5 10

<210> 485

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 485

Gly	Glu	Ile	Tyr	Phe	Asp	Leu	Arg	Leu	Lys	Gly	Asp	Lys
1				5					10			
<210>	489											
<211>	13											
<212>	PRT											
<213>	人工序列(Artificial Sequence)											
<220>												

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 489

Gly Glu Ile Tyr Leu Asp Met Arg Leu Lys Gly Asp Lys

1 5 10

<210> 490

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 490

Ile Gly Gln Pro Gly Ala Lys Gly Glu Pro Gly Glu Phe Tyr Phe Asp

1 5 10 15

Leu Arg Leu Lys Gly Asp Lys Gly Asp Pro Gly Phe Pro Gly

20 25 30

<210> 491

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 491

Gly Glu Val Phe Phe Asp Met Arg Leu Lys Gly Asp Lys

1 5 10

<210> 492

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 492

Leu Ala Gly Ser Cys Leu Pro Ile Phe Ser Thr Leu

1 5 10

<210> 493

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 493

Ala His Asn Gln Asp Leu Gly Leu Ala Gly Ser Cys Leu Ala Arg Phe

1 5 10 15

Ser Thr Met Pro Phe Leu Tyr Cys Asn Pro Gly Asp Ile Cys

20 25 30

<210> 494

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 494

Gln Glu Lys Ala His Asn Gln Asp Leu Gly Leu Ala Gly Ser Cys Leu

1 5 10 15

Pro Val Phe Ser Thr Leu Pro Phe Ala Tyr Cys Asn Ile His

20 25 30

<210> 495

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 495

Leu Ala Gly Ser Cys Leu Pro Val Phe Ser Thr Met

1 5 10

<210> 496

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 496

Gly Asn Lys Arg Ala His Gly Gln Asp Leu Gly Thr Ala Gly Ser Cys
1 5 10 15
Leu Arg Arg Phe Ser Thr Met Pro Phe Met Phe Cys Asn Ile
 20 25 30

<210> 497

<211> 21

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 497

Arg Ala His Gly Gln Asp Leu Gly Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Arg
1 5 10 15
Phe Ser Thr Met Pro
 20

<210> 498

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 498

Arg Lys Arg Leu Gln Val Gln Leu Asn Ile Arg Thr
1 5 10

<210> 499

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 499

His Leu Val Leu Pro Leu Gln Gln Ser Asp Val Arg Lys Arg Leu Gln
1 5 10 15
Val Gln Leu Ser Ile Arg Thr Phe Ala Ser Ser Gly Leu Ile
 20 25 30

<210> 500

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 500

Arg Lys Arg Leu Ser Val Gln Leu Arg Ile Arg Thr

1 5 10

<210> 501

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 501

Asp Leu Gly Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Arg Phe Ser Thr Met

1 5 10 15

<210> 502

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 502

Arg Asn Ile Ala Glu Ile Ile Lys Asp Ile

1 5 10

<210> 503

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 503

Thr Ala Gly Ser Cys Leu Arg Lys Phe Ser Thr Met Arg Arg Arg Arg

1 5 10 15
Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
20
<210> 504
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 504
Phe Thr Leu Thr Gly Leu Leu Gly Thr Leu Val Thr Met Gly Leu Leu
1 5 10 15
Thr
<210> 505
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 505
Ala Pro Tyr Lys Ala Trp Lys
1 5
<210> 506
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<221> source
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”
<400> 506
Ser Thr Ser Lys Thr Asn Arg Gly Asp Asp Ser Asn Trp Ser Lys Arg
1 5 10 15
Val Thr Asn Asn Lys Pro Ser
20
<210> 507
<211> 23
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 507

Ser Thr Ser Lys Arg Lys Arg Gly Asp Asp Ser Asn Trp Ser Lys Arg

1 5 10 15

Val Thr Lys Lys Lys Pro Ser

20

<210> 508

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 508

Ser Thr Ser Lys Arg Lys Arg Gly Asp Asp Ser Asn Trp Ser Lys Arg

1 5 10 15

Val Ser Lys Lys Lys Pro Ser

20

<210> 509

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 509

Ser Thr Ser Lys Arg Lys Arg Gly Asp Asp Ala Asn Trp Ser Lys Arg

1 5 10 15

Val Thr Lys Lys Lys Pro Ser

20

<210> 510

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 510

Pro Leu Ala Gly Ser Lys Arg Lys Arg Ala Asp Glu Val Ala Trp Ser

1 5 10 15

Lys Arg Gly Thr Lys Lys Lys Pro Glu Arg

20 25

<210> 511

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 511

Pro Leu Ala Gly Ser Lys Arg Lys Arg Ala Asp Glu Val Ala Trp Ser

1 5 10 15

Lys Arg Gly Thr Lys Lys Lys Pro Glu Arg Thr Ser Ala Ala Arg Ala

20 25 30

Gly Pro Ser Arg Arg Ile Arg

35

<210> 512

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 512

Ser Thr Ser Lys Arg Lys Arg Gly Asp Asp Ala Asn Trp Ser Lys Arg

1 5 10 15

Thr Thr Lys Lys Lys Pro Ser Ser

20

<210> 513

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 513

Ser Thr Ser Lys Arg Lys Arg Gly Asp Asp Ala Asn Trp Ser Lys Arg

1 5 10 15

Thr Thr Lys Lys Lys Pro Ser Ser Ala Gly Leu Lys Arg Ala Gly Ser

20 25 30

Lys Ala Asp Arg Pro Ser Leu

35

<210> 514

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 514

Pro Thr Thr Ala Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asp Asp Ala Ala Trp Ser

1 5 10 15

Lys Arg Ala Arg Pro Lys Ala Gly Arg Thr

20 25

<210> 515

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 515

Pro Thr Thr Ala Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asp Asp Ala Ala Trp Ser

1 5 10 15

Lys Arg Ala Arg Pro Lys Ala Gly Arg Thr Ser Ala Ala Arg Pro Gly

20 25 30

Thr Ser Val Arg Arg Ile Arg

35

<210> 516

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 516

Ser Ser Ser Leu Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Gly Ala Trp Ser
1 5 10 15
Lys Gly Lys Ser Lys Lys Lys Ala Met Arg
 20 25

<210> 517

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 517

Ser Ser Ser Leu Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Gly Ala Trp Ser
1 5 10 15
Lys Gly Lys Ser Lys Lys Lys Ala Met Arg Gly Ser Ser Ser Arg Arg
 20 25 30
Pro Gly Pro Val Arg Gly Pro
 35

<210> 518

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 518

Pro Thr Thr Ala Gly Lys Arg Lys Arg Thr Asp Asp Ala Ala Trp Ser
1 5 10 15
Lys Arg Ala Arg Pro Lys Ala Gly Arg
 20 25

<210> 519

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 519

Pro Thr Thr Ala Gly Lys Arg Lys Arg Thr Asp Asp Ala Ala Trp Ser

1 5 10 15

Lys Arg Ala Arg Pro Lys Ala Gly Arg Thr Ser Ala Ala Arg Pro Gly

20 25 30

Thr Ala Val Arg Arg Val Arg

35

<210> 520

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 520

Pro Ala Thr Ala Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asp Asp Ala Ala Trp Ser

1 5 10 15

Lys Arg Ala Arg Pro Lys Ala Gly Arg Thr Ser Ala Ala Arg

20 25 30

<210> 521

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 521

Pro Ala Thr Ala Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asp Asp Ala Ala Trp Ser

1 5 10 15

Lys Arg Ala Arg Pro Lys Ala Gly Arg Thr Ser Ala Ala Arg Pro Gly

20 25 30

Thr Ser Val Arg Arg Ile Arg

35

<210> 522

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 522

Ser Ser Ser Leu Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asn Gly Gly Asp Trp Ser
1 5 10 15
Lys Arg Ser Ala Lys Lys Lys Pro Ala
 20 25

<210> 523

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 523

Ser Ser Ser Leu Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asn Gly Gly Asp Trp Ser
1 5 10 15
Lys Arg Ser Ala Lys Lys Lys Pro Ala Gly Thr Pro Ser Arg Arg Ala
 20 25 30
Gly Pro Gly Arg Gly Pro Arg
 35

<210> 524

<211> 26

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 524

Ser Ser Ser Leu Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Gly Ala Trp Ser
1 5 10 15
Lys Gly Lys Ser Lys Lys Lys Ala Met Arg
 20 25

<210> 525

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 525

Ser Ser Ser Leu Gly Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Gly Ala Trp Ser

1 5 10 15

Lys Gly Lys Ser Lys Lys Lys Ala Met Arg Gly Ser Ser Ser Arg Arg

20 25 30

Pro Gly Pro Val Arg Gly Pro

35

<210> 526

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 526

Ser Thr Ser Lys Arg Lys Arg Gly Asp Asp Ala Asn Trp Asn Lys Arg

1 5 10 15

Pro Thr Lys Lys Lys Pro Ser Ser

20

<210> 527

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 527

Ser Thr Ser Lys Arg Lys Arg Gly Asp Asp Ala Asn Trp Asn Lys Arg

1 5 10 15

Pro Thr Lys Lys Lys Pro Ser Ser Ala Gly Leu Lys Lys Ala Gly Ser

20 25 30

Lys Ala Glu Arg Pro Ser Leu

35

<210> 528

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 528

Ser Gly Ala Leu Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Val Ala Trp Ser Arg

1 5 10 15

Arg Arg Pro Val Lys Lys Pro Val

20

<210> 529

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 529

Ser Gly Ala Leu Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Val Ala Trp Ser Arg

1 5 10 15

Arg Arg Pro Val Lys Lys Pro Val Arg Arg Ala Pro Pro Pro Arg Ala

20 25 30

Gly Pro Ser Val Arg Arg Gly

35

<210> 530

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 530

Ser Gly Ala Leu Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Val Ala Trp Ser Arg

1 5 10 15

Arg Lys Pro Ala Lys Lys Pro Ala Arg

20 25

<210> 531

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 531

Ser Gly Ala Leu Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Val Ala Trp Ser Arg

1 5 10 15

Arg Lys Pro Ala Lys Lys Pro Ala Arg Gln Pro Pro Pro Pro Arg Ala

20 25 30

Gly Pro Ser Val Arg Arg Gly

35

<210> 532

<211> 25

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 532

Ala Gly Ala Leu Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Val Ala Trp Ser Arg

1 5 10 15

Arg Lys Pro Ala Lys Lys Pro Ala Arg

20 25

<210> 533

<211> 39

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 533

Ala Gly Ala Leu Lys Arg Lys Arg Ser Asp Glu Val Ala Trp Ser Arg

1 5 10 15

Arg Lys Pro Ala Lys Lys Pro Ala Arg Ala Pro Pro Pro Arg Ala Gly

20 25 30

Pro Ser Val Arg Arg Gly Leu

35

<210> 534

<211> 243

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 534

Ser	Thr	Ser	Lys	Arg	Lys	Arg	Gly	Asp	Asp	Ser	Asn	Trp	Ser	Lys	Arg
1			5				10				15				
Val	Thr	Lys	Lys	Lys	Pro	Ser	Ser	Ala	Gly	Leu	Lys	Arg	Ala	Gly	Ser
			20				25				30				
Lys	Ala	Asp	Arg	Pro	Ser	Leu	Gln	Ile	Gln	Thr	Leu	Gln	His	Ala	Gly
			35				40				45				
Thr	Thr	Met	Ile	Thr	Val	Pro	Ser	Gly	Gly	Val	Cys	Asp	Leu	Ile	Asn
			50			55				60					
Thr	Tyr	Ala	Arg	Gly	Ser	Asp	Glu	Gly	Asn	Arg	His	Thr	Ser	Glu	Thr
65					70				75					80	
Leu	Thr	Tyr	Lys	Ile	Ala	Ile	Asp	Tyr	His	Phe	Val	Ala	Asp	Ala	Ala
			85				90				95				
Ala	Cys	Arg	Tyr	Ser	Asn	Thr	Gly	Thr	Gly	Val	Met	Trp	Leu	Val	Tyr
			100				105				110				
Asp	Thr	Thr	Pro	Gly	Gly	Gln	Ala	Pro	Thr	Pro	Gln	Thr	Ile	Phe	Ser
			115				120				125				
Tyr	Pro	Asp	Thr	Leu	Lys	Ala	Trp	Pro	Ala	Thr	Trp	Lys	Val	Ser	Arg
			130				135				140				
Glu	Leu	Cys	His	Arg	Phe	Val	Val	Lys	Arg	Arg	Trp	Leu	Phe	Asn	Met
145					150				155					160	
Glu	Thr	Asp	Gly	Arg	Ile	Gly	Ser	Asp	Ile	Pro	Pro	Ser	Asn	Ala	Ser
			165				170				175				
Trp	Lys	Pro	Cys	Lys	Arg	Asn	Ile	Tyr	Phe	His	Lys	Phe	Thr	Ser	Gly
			180				185				190				
Leu	Gly	Val	Arg	Thr	Gln	Trp	Lys	Asn	Val	Thr	Asp	Gly	Gly	Val	Gly
			195				200				205				
Ala	Ile	Gln	Arg	Gly	Ala	Leu	Tyr	Met	Val	Ile	Ala	Pro	Gly	Asn	Gly
			210				215				220				
Leu	Thr	Phe	Thr	Ala	His	Gly	Gln	Thr	Arg	Leu	Tyr	Phe	Lys	Ser	Val
225					230				235					240	
Gly	Asn	Gln													

<210> 535

<211> 100

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 535

```

Asp Pro Gln Asn Ala Leu Tyr Tyr Gln Pro Arg Val Pro Thr Ala Ala
1           5           10           15
Pro Thr Ser Gly Gly Val Pro Trp Ser Arg Val Gly Glu Val Ala Ile
          20           25           30
Leu Ser Phe Val Ala Leu Ile Cys Phe Tyr Leu Leu Tyr Leu Trp Val
          35           40           45
Leu Arg Asp Leu Ile Leu Val Leu Lys Ala Arg Gln Gly Arg Ser Thr
          50           55           60
Glu Glu Leu Ile Phe Gly Gly Gln Ala Val Asp Arg Ser Asn Pro Ile
65           70           75           80
Pro Asn Ile Pro Ala Pro Pro Ser Gln Gly Asn Pro Gly Pro Phe Val
          85           90           95
Pro Gly Thr Gly
          100

```

<210> 536

<211> 292

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 536

```

Gly Ser Gln Leu Val Pro Pro Pro Ser Ala Phe Asn Tyr Ile Glu Ser
1           5           10           15
Gln Arg Asp Glu Phe Gln Leu Ser His Asp Leu Thr Glu Ile Val Leu
          20           25           30
Gln Phe Pro Ser Thr Ala Ser Gln Ile Thr Ala Arg Leu Ser Arg Ser
          35           40           45
Cys Met Lys Ile Asp His Cys Val Ile Glu Tyr Arg Gln Gln Val Pro
          50           55           60
Ile Asn Ala Ser Gly Thr Val Ile Val Glu Ile His Asp Lys Arg Met
65           70           75           80
Thr Asp Asn Glu Ser Leu Gln Ala Ser Trp Thr Phe Pro Ile Arg Cys
          85           90           95
Asn Ile Asp Leu His Tyr Phe Ser Ser Ser Phe Phe Ser Leu Lys Asp
          100          105          110
Pro Ile Pro Trp Lys Leu Tyr Tyr Arg Val Ser Asp Ser Asn Val His

```

115	120	125
Gln Met Thr His Phe Ala Lys	Phe Lys Gly Lys Leu Lys	Leu Ser Ser
130	135	140
Ala Lys His Ser Val Asp Ile Pro	Phe Arg Ala Pro Thr Val Lys	Ile
145	150	155
Leu Ala Lys Gln Phe Ser Glu Lys	Asp Ile Asp Phe Trp His Val	Gly
165	170	175
Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Arg Leu	Val Lys Ser Ala Ser Ser Ser	Arg
180	185	190
Phe Gly Leu Arg Gly Pro Ile Glu	Ile Asn Pro Gly Glu Ser Trp	Ala
195	200	205
Thr Lys Ser Ala Ile Val Thr Pro	Asn Arg Asn Ala Asp Leu Asp	Ile
210	215	220
Glu Glu Glu Leu Leu Pro Tyr Arg	Glu Leu Asn Arg Leu Gly Thr	Asn
225	230	235
Ile Leu Asp Pro Gly Glu Ser Ala	Ser Ile Val Gly Ile Gln Arg	Ser
245	250	255
Gln Ser Asn Ile Thr Met Ser Met	Ser Gln Leu Asn Glu Leu Val	Arg
260	265	270
Ser Thr Val His Glu Cys Ile Lys	Thr Ser Cys Ile Pro Ser Thr	Pro
275	280	285
Lys Ser Leu Ser		
290		

<210> 537

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 537

Arg Thr Gly Val Lys Arg Ser Tyr Gly	Ala Ala Arg Gly Asp Asp Arg
1	5 10 15
Arg Arg Pro Asn Val Val	
20	

<210> 538

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 538

Ser Tyr Val Lys Thr Val Pro Asn Arg Thr Arg Thr Tyr Ile Lys Leu

1 5 10 15

Arg Val Arg

<210> 539

<211> 255

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 539

Met Tyr Ser Thr Ser Asn Arg Arg Gly Arg Ser Gln Thr Gln Arg Gly

1 5 10 15

Ser His Val Arg Arg Thr Gly Val Lys Arg Ser Tyr Gly Ala Ala Arg

20 25 30

Gly Asp Asp Arg Arg Arg Pro Asn Val Val Ser Lys Thr Gln Val Glu

35 40 45

Pro Arg Met Thr Ile Gln Arg Val Gln Glu Asn Gln Phe Gly Pro Glu

50 55 60

Phe Val Leu Ser Gln Asn Ser Ala Leu Ser Thr Phe Val Thr Tyr Pro

65 70 75 80

Ser Tyr Val Lys Thr Val Pro Asn Arg Thr Arg Thr Tyr Ile Lys Leu

85 90 95

Lys Arg Val Arg Phe Lys Gly Thr Leu Lys Ile Glu Arg Gly Gln Gly

100 105 110

Asp Thr Ile Met Asp Gly Pro Ser Ser Asn Ile Glu Gly Val Phe Ser

115 120 125

Met Val Ile Val Val Asp Arg Lys Pro His Val Ser Gln Ser Gly Arg

130 135 140

Leu His Thr Phe Asp Glu Leu Phe Gly Ala Arg Ile His Cys His Gly

145 150 155 160

Asn Leu Ser Val Val Pro Ala Leu Lys Asp Arg Tyr Tyr Ile Arg His

165 170 175

Val Thr Lys Arg Val Val Ser Leu Glu Lys Asp Thr Leu Leu Ile Asp

180 185 190

Leu His Gly Thr Thr Gln Leu Ser Asn Lys Arg Tyr Asn Cys Trp Ala
195 200 205
Ser Phe Ser Asp Leu Glu Arg Asp Cys Asn Gly Val Tyr Gly Asn Ile
210 215 220
Thr Lys Asn Ala Leu Leu Val Tyr Tyr Cys Trp Leu Ser Asp Ala Gln
225 230 235 240
Ser Lys Ala Ser Thr Tyr Val Ser Phe Glu Leu Asp Tyr Leu Gly
245 250 255

<210> 540

<211> 30

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 540

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Val Asp Tyr Gly
1 5 10 15
Lys Trp Glu Arg Lys Pro Ile Arg Cys Ala Ser Met Ser Arg
20 25 30

<210> 541

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 541

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Gly Lys Trp Glu
1 5 10 15
Arg Lys Pro Ile Arg Cys Ala Ser
20

<210> 542

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 542

Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys

1 5 10 15

Gly Lys Trp Glu Arg Lys Pro Ile Arg Cys Ala Ser

20 25

<210> 543

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 543

Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Val Asp Phe Ser

1 5 10 15

His Val Asp Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Pro Ile Arg Cys Ala Ser

20 25 30

Met Ser Arg Leu Gly Leu Arg Gly

35 40

<210> 544

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 544

Gly Val Lys Arg Ser Tyr Gly Ala Ala Arg Gly Asp Asp Arg Arg Arg

1 5 10 15

Pro Asn Val Val Ala Pro Tyr Lys Ala Trp Arg Arg Arg Arg Arg Arg

20 25 30

Arg Arg Arg Arg Arg Arg

35

<210> 545

<211> 38

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 545

Lys Ser Val Pro Asn Arg Thr Arg Thr Tyr Ile Lys Leu Lys Arg Leu
1 5 10 15
Arg Phe Lys Gly Ala Pro Tyr Lys Ala Trp Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 20 25 30
Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 35

<210> 546

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 546

Arg Thr Gly Val Lys Arg Ser Tyr Gly Ala Ala Arg Gly Asp Asp Arg
1 5 10 15
Arg Arg Pro Asn Val Val Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 20 25 30
Arg Arg

<210> 547

<211> 32

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 547

Ser Tyr Val Lys Thr Val Pro Asn Arg Thr Arg Thr Tyr Ile Lys Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Gly Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg Arg
 20 25 30

<210> 548

<211> 50

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 548

Val Asp Ile Pro Phe Arg Ala Pro Thr Ile Lys Ile Leu Ser Lys Gln

1 5 10 15

Phe Thr Glu Asp Asp Ile Asp Phe Trp His Val Gly Tyr Gly Lys Trp

20 25 30

Glu Arg Lys Leu Val Arg Pro Ala Ser Leu Ser Gly Arg Arg Gly Leu

35 40 45

Arg Arg

50

<210> 549

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 549

Ile Asp Phe Trp His Val Gly Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Leu Val

1 5 10 15

Arg Pro Ala Ser Leu Ser Gly Arg Arg Gly Leu Arg Arg

20 25

<210> 550

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 550

Ile Asp Phe Trp Ser Val Glu Lys Gly Glu Thr Arg Arg Arg Leu Leu

1 5 10 15

Asn Pro Thr Pro His Ala His Ser Pro Arg Pro Ile Ala His Arg

20 25 30

<210> 551

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 551

Ile Asp Phe Ser His Val Gly Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Met Ile

1 5 10 15

Arg Ser Ala Ser Ile Ser Arg Leu Gly Leu His Asn

20 25

<210> 552

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 552

Val Asp Phe Ser His Val Gly Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Leu Ile

1 5 10 15

Arg Ser Ala Ser Thr Val Lys Tyr Gly Leu Pro Ser

20 25

<210> 553

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 553

Ile Asp Phe Ser His Val Asp Tyr Gly Lys Val Glu Arg Lys Leu Val

1 5 10 15

Lys Cys Glu Ser Ser Ser Arg Leu Gly Leu His Ser

20 25

<210> 554

<211> 29

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 554

Ile Asp Phe Trp Ser Val Gly Arg Lys Ala Gln Gln Arg Lys Leu Val
 1 5 10 15
 Gln Gly Pro Ser Leu Ile Gly Ser Arg Ser Met Arg Tyr
 20 25

<210> 555

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 555

Ile Asp Phe Trp Ser Val Gly Ser Lys Pro Gln Thr Arg Arg Leu Val
 1 5 10 15
 Asp Gly Ser Arg Leu Ile Gly His Ser Ser Arg Ser Leu Arg Val
 20 25 30

<210> 556

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 556

Ile Asp Phe Trp Ser Val Glu Arg Gly Glu Thr Arg Arg Arg Leu Leu
 1 5 10 15
 Asn Pro Thr Pro Ser Ala Gly Ser Asn Arg Ala Leu Ser Lys Arg
 20 25 30

<210> 557

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 557

Val Asp Phe Trp Ser Val Gly Lys Pro Lys Pro Ile Arg Arg Leu Ile
 1 5 10 15
 Gln Asn Asp Pro Gly Thr Asp Tyr Asp Thr Gly Pro Lys Tyr Arg

252

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 561

Ile Asp Phe Trp His Val Gly Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Arg Leu Val

1 5 10 15

Lys Ser Ala Ser Ser Ser Arg Phe Gly Ile Arg Gly

20 25

<210> 562

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 562

Val Asp Phe Phe His Val Asp Tyr Gly Arg Trp Glu Arg Lys His Ile

1 5 10 15

Arg Cys Ala Ser Met Ser Arg Val Gly Leu Arg Gly

20 25

<210> 563

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 563

Gly Thr Phe Gln His Val Asp Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Pro Ile

1 5 10 15

Arg Cys Gln Ser Met Ser Arg Val Gly Tyr Arg Arg

20 25

<210> 564

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 564

Val Gly Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Leu Val Arg Pro Ala Ser Leu

1 5 10 15

Ser

<210> 565

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 565

Val Glu Lys Gly Glu Thr Arg Arg Arg Leu Leu Asn Pro Thr Pro His

1 5 10 15

Ala

<210> 566

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 566

Val Gly Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Leu Ile Arg Ser Ala Ser Thr

1 5 10 15

Val

<210> 567

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 567

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

1 5 10 15

Gln

<210> 568

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 568

Val Asp Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Leu Ile Arg Ser Ala Ser Thr

1 5 10 15

Ser

<210> 569

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 569

Val Asp Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys Thr Leu Arg Ser Arg Ser Leu

1 5 10 15

Ser

<210> 570

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 570

Val Gly Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Arg Leu Val Lys Ser Ala Ser Ser

1 5 10 15

Ser

<210> 571

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 571

Val Asp Tyr Gly Arg Trp Glu Arg Lys His Ile Arg Cys Ala Ser Met

1 5 10 15

Ser

<210> 572

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”

<400> 572

Val Glu Arg Pro Lys Pro Ile Arg Arg Leu Leu Thr Pro Thr Pro Gly

1 5 10 15

Cys

<210> 573

<211> 47

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 573

Pro Phe Arg Ala Pro Thr Ile Lys Ile Leu Ser Lys Gln Phe Thr Glu

1 5 10 15

Asp Asp Ile Asp Phe Trp His Val Gly Tyr Gly Lys Trp Glu Arg Lys

20 25 30

Leu Val Arg Pro Ala Ser Leu Ser Gly Arg Arg Gly Leu Arg Arg

35 40 45

<210> 574

<211> 44

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 574

Pro Phe Arg Ala Pro Thr Val Lys Ile Leu Ser Lys Gln Phe Thr Asp

1	5	10	15													
Lys	Asp	Ile	Asp	Phe	Ser	His	Val	Gly	Tyr	Gly	Lys	Trp	Glu	Arg	Lys	
	20		25		30											
Met	Ile	Arg	Ser	Ala	Ser	Ile	Ser	Arg	Leu	Gly	Leu					

35 40
 <210> 575
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <221> source
 <223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”
 <400> 575

Asp	Ile	Ala	Phe	Arg	Ala	Pro	Thr	Val	Lys	Ile	Leu	Ser	Lys	Gln	Phe
1	5	10	15												
Thr	Asp	Arg	Asp	Val	Asp	Phe	Ser	His	Val	Gly	Tyr	Gly	Lys	Trp	Glu
	20		25		30										
Arg	Lys	Leu	Ile	Arg	Ser	Ala	Ser	Thr	Val	Lys	Tyr	Gly	Leu		
	35		40		45										

<210> 576
 <211> 49
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>
 <221> source
 <223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”
 <400> 576

Asp	Ile	Arg	Phe	Lys	Pro	Pro	Thr	Ile	Asn	Ile	Leu	Ser	Lys	Asp	Tyr
1	5	10	15												
Thr	Ala	Asp	Cys	Val	Asp	Phe	Trp	Ser	Val	Glu	Lys	Pro	Lys	Pro	Ile
	20		25		30										
Arg	Arg	Leu	Leu	Asn	Pro	Gly	Pro	Asn	Gln	Gly	Pro	Tyr	Pro	Asn	Thr
	35		40		45										

Gly
 <210> 577
 <211> 46
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 577

Asp	Ile	Pro	Phe	Arg	Ala	Pro	Thr	Val	Lys	Ile	His	Ser	Lys	Gln	Phe
1				5					10					15	
Ser	His	Arg	Asp	Val	Asp	Phe	Ser	His	Val	Asp	Tyr	Gly	Lys	Trp	Glu
			20					25					30		
Arg	Lys	Thr	Leu	Arg	Ser	Arg	Ser	Leu	Ser	Arg	Ile	Gly	Leu		
			35					40					45		

<210> 578

<211> 46

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 578

Asp	Ile	Pro	Phe	Arg	Ala	Pro	Thr	Val	Lys	Ile	Leu	Ala	Lys	Gln	Phe
1				5					10					15	
Ser	Glu	Lys	Asp	Ile	Asp	Phe	Trp	His	Val	Gly	Tyr	Gly	Lys	Trp	Glu
			20					25					30		
Arg	Arg	Leu	Val	Lys	Ser	Ala	Ser	Ser	Ser	Arg	Phe	Gly	Ile		
			35					40					45		

<210> 579

<211> 46

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 579

Asp	Ile	Pro	Phe	Arg	Ala	Pro	Thr	Val	Lys	Ile	Leu	Ser	Lys	Gln	Phe
1				5					10					15	
Thr	Asp	Lys	Asp	Val	Asp	Phe	Phe	His	Val	Asp	Tyr	Gly	Arg	Trp	Glu
			20					25					30		
Arg	Lys	His	Ile	Arg	Cys	Ala	Ser	Met	Ser	Arg	Val	Gly	Leu		
			35					40					45		

<210> 580

<211> 43

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 580

```

Asp Ile Lys Tyr Lys Pro Pro Thr Ile Lys Ile Leu Ser Lys Asp Tyr
1           5           10           15
Thr Ala Asp Cys Val Asp Phe Trp Ser Val Glu Arg Pro Lys Pro Ile
           20           25           30
Arg Arg Leu Leu Thr Pro Thr Pro Gly Cys Gly
           35           40

```

<210> 581

<211> 47

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 581

```

Ala Arg Thr Lys Gln Thr Ala Arg Lys Ser Thr Gly Gly Lys Ala Pro
1           5           10           15
Arg Lys Gln Leu Ala Thr Lys Ala Ala Arg Lys Ser Ala Pro Ala Thr
           20           25           30
Gly Gly Val Lys Lys Pro His Arg Tyr Arg Pro Gly Thr Val Ala
           35           40           45

```

<210> 582

<211> 34

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<221> source

<223> /注释 = “人工序列的描述:合成多肽”

<400> 582

```

Ser Gly Arg Gly Lys Gly Gly Lys Gly Leu Gly Lys Gly Gly Ala Lys
1           5           10           15
Arg His Arg Lys Val Leu Arg Asp Asn Ile Gln Gly Ile Thr Lys Pro
           20           25           30
Ala Ile

```

<210> 583	
<211> 10	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成肽”	
<400> 583	
Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg	
1 5 10	
<210> 584	
<211> 49	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成寡核苷酸”	
<400> 584	
ttgaggttgc tagtgaaggc tagctacaac gaacagttgt gtcagaagc	49
<210> 585	
<211> 45	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成引物”	
<400> 585	
agtaatacga ctactatag ggagaacatt tgcttctgac acaac	45
<210> 586	
<211> 45	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成引物”	
<400> 586	
agtaatacga ctactataa ggagaacatt tgcttctgac acaac	45
<210> 587	
<211> 45	

<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成引物”	
<400> 587	
agtaatacga ctcactatag tgagaacatt tgcttctgac acaac	45
<210> 588	
<211> 45	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成引物”	
<400> 588	
agtaatacga ctcactatag cgagaacatt tgcttctgac acaac	45
<210> 589	
<211> 45	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成引物”	
<400> 589	
agtaatacga ctcactatag agagaacatt tgcttctgac acaac	45
<210> 590	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成引物”	
<400> 590	
gccctctaga tcaaccactt tggccctct	29
<210> 591	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 未知(Unknown)	
<220>	

<221> source	
<223> /注释 = “未知的描述:T7噬菌体序列”	
<400> 591	
taatacgact cactataggg aga	23
<210> 592	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 未知(Unknown)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “未知的描述:T3噬菌体序列”	
<400> 592	
aattaaccct cactaaaggg aga	23
<210> 593	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 未知(Unknown)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “未知的描述:SP6噬菌体序列”	
<220>	
<221> modified_base	
<222> (22) .. (22)	
<223> a、c、t、g、未知或其它	
<400> 593	
atttaggtga cactatagaa gng	23
<210> 594	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 未知(Unknown)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “未知的描述:K11噬菌体序列”	
<400> 594	
aattagggca cactataggg aac	23
<210> 595	
<211> 10	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	

<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成寡核苷酸”	
<400> 595	
tatagggaga	10
<210> 596	
<211> 10	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成寡核苷酸”	
<400> 596	
tataaggaga	10
<210> 597	
<211> 10	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<221> source	
<223> /注释 = “人工序列的描述:合成寡核苷酸”	
<400> 597	
tatagtgaga	10

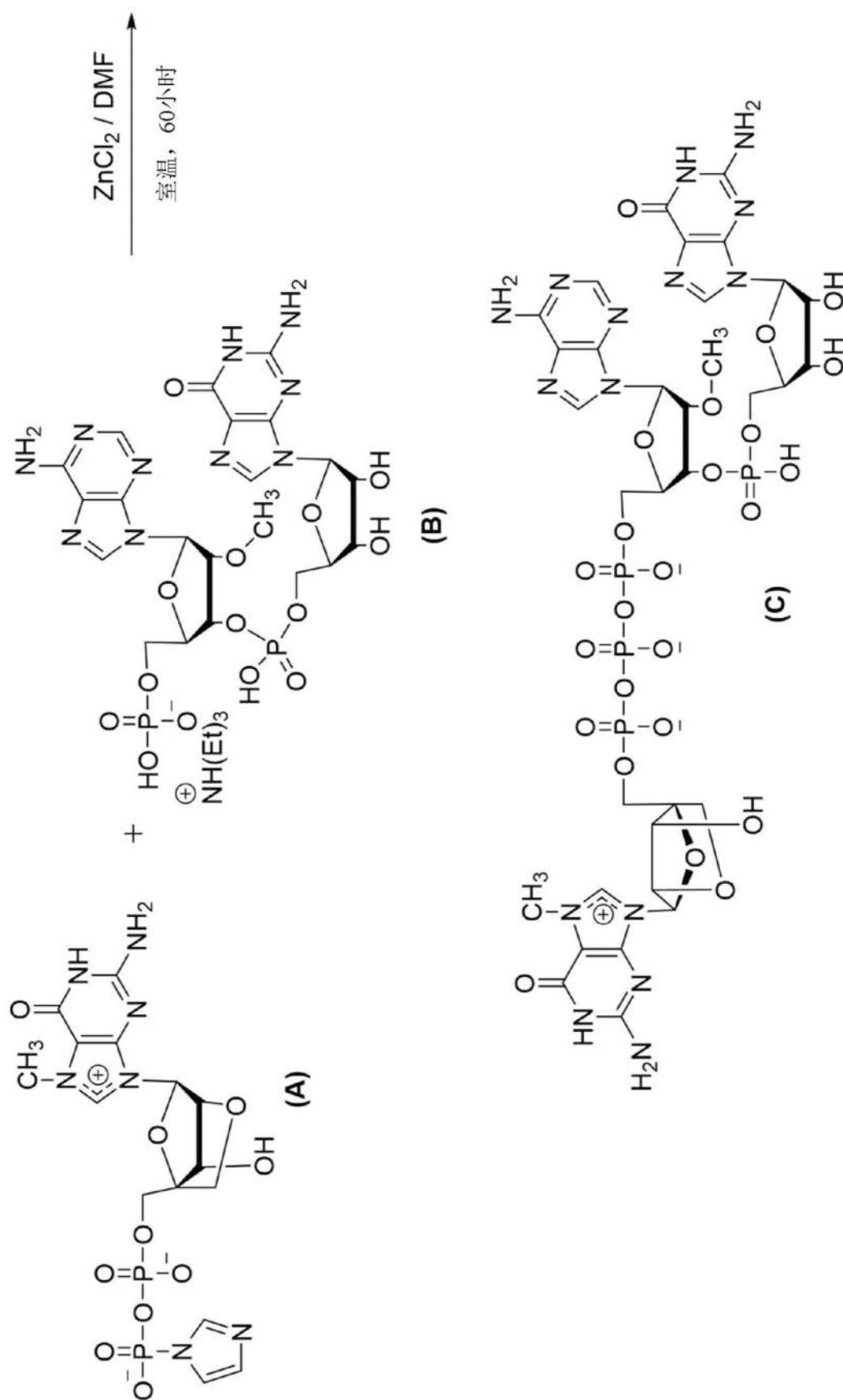


图1

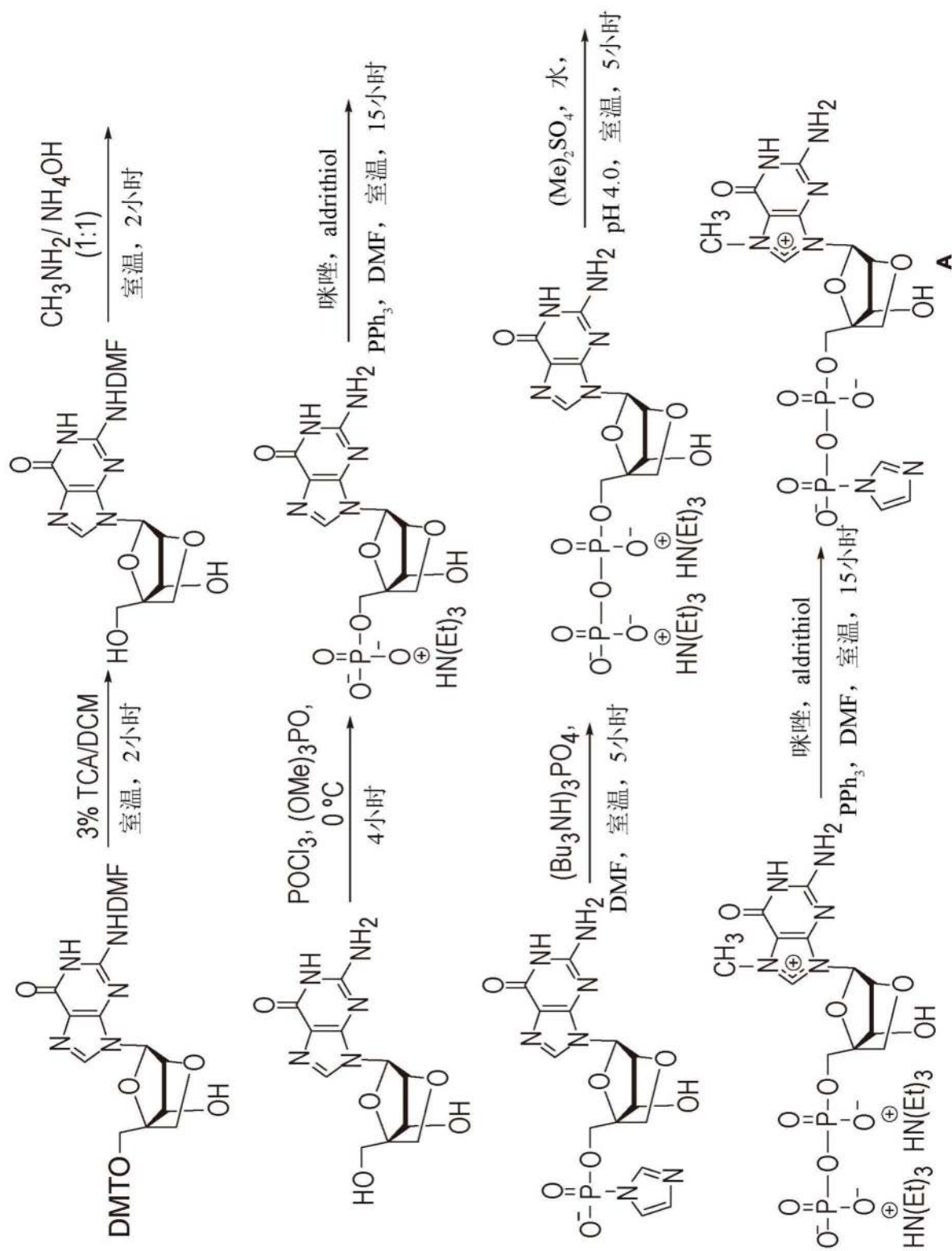


图2

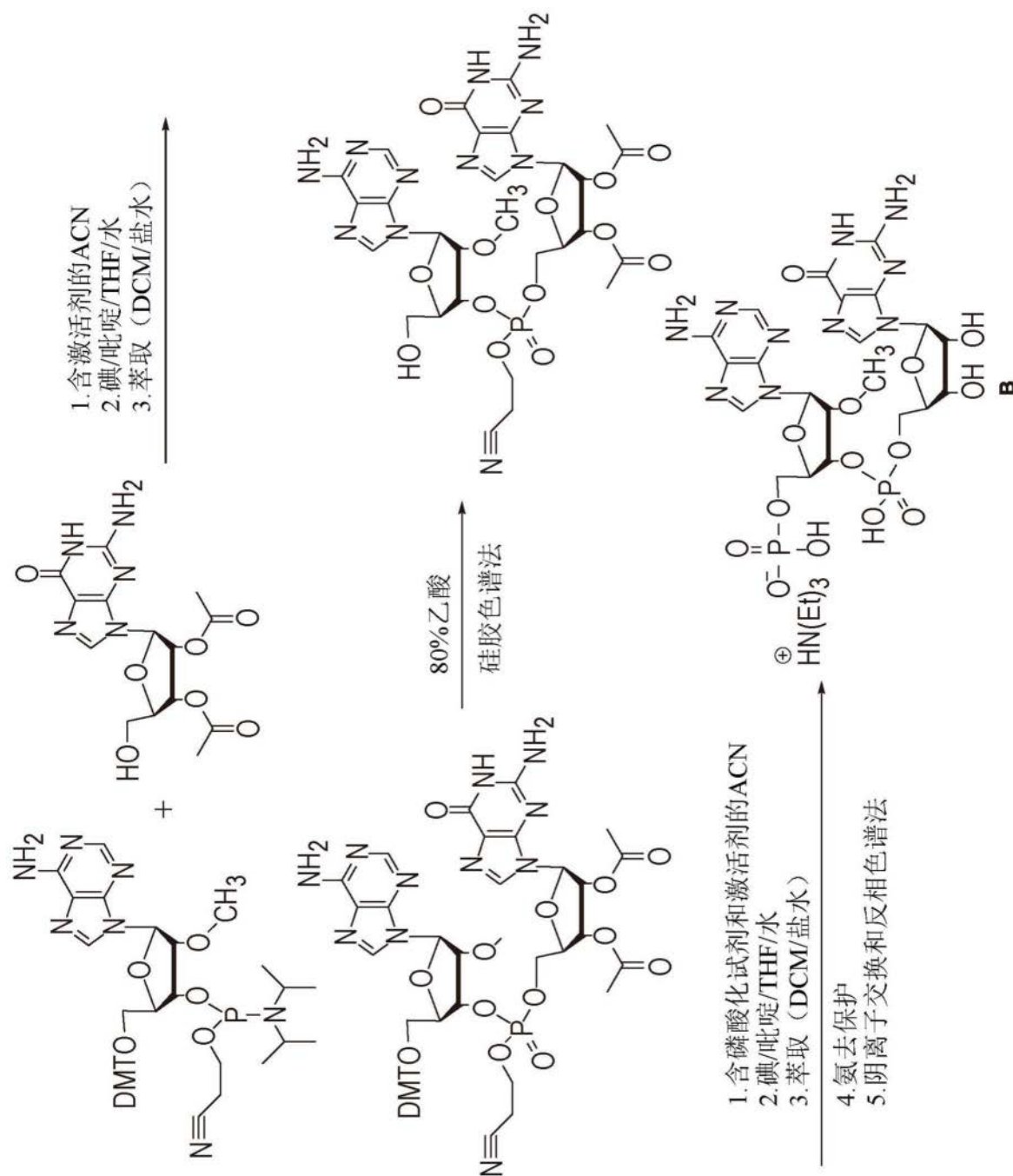


图3

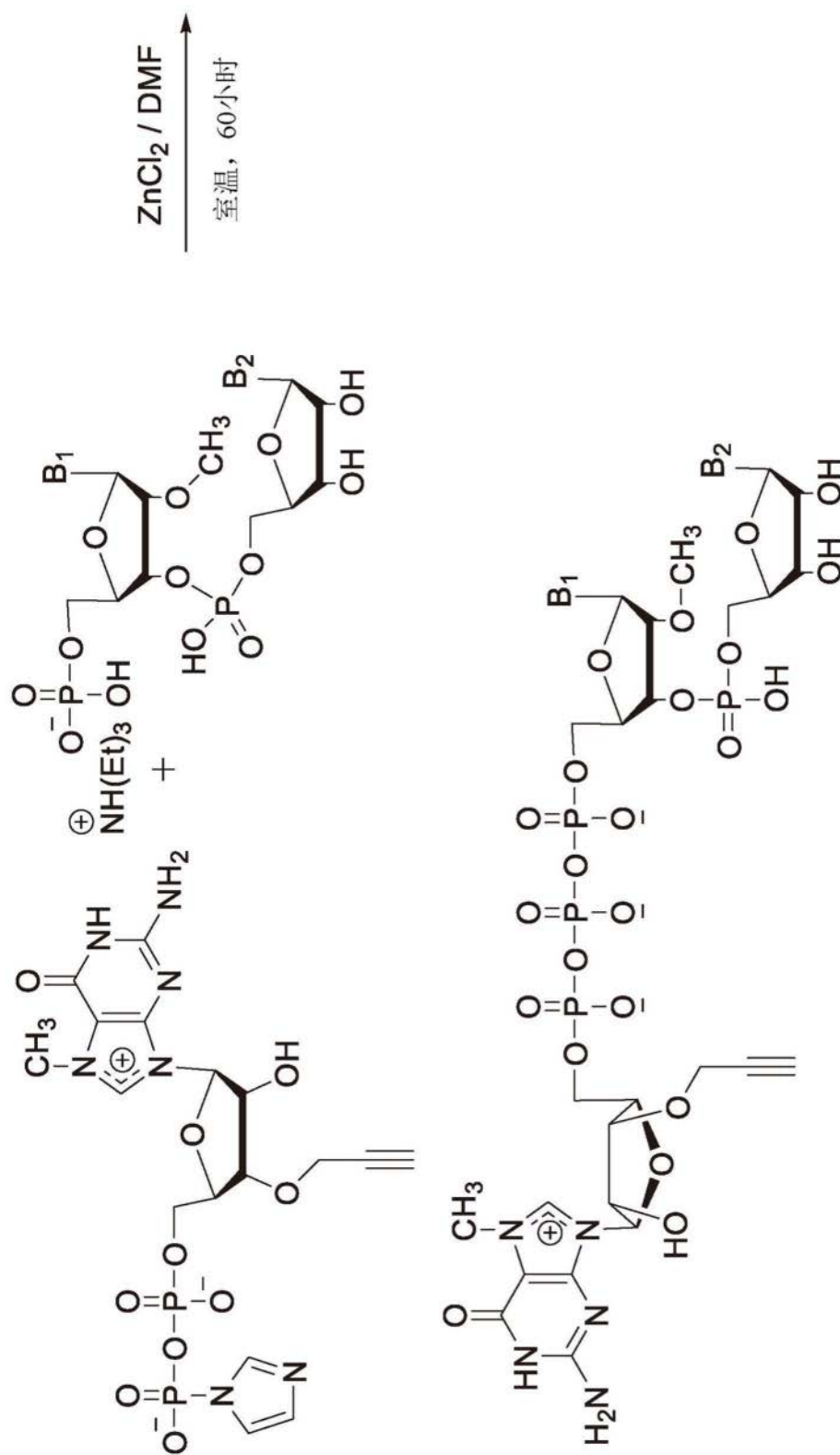


图4

图5

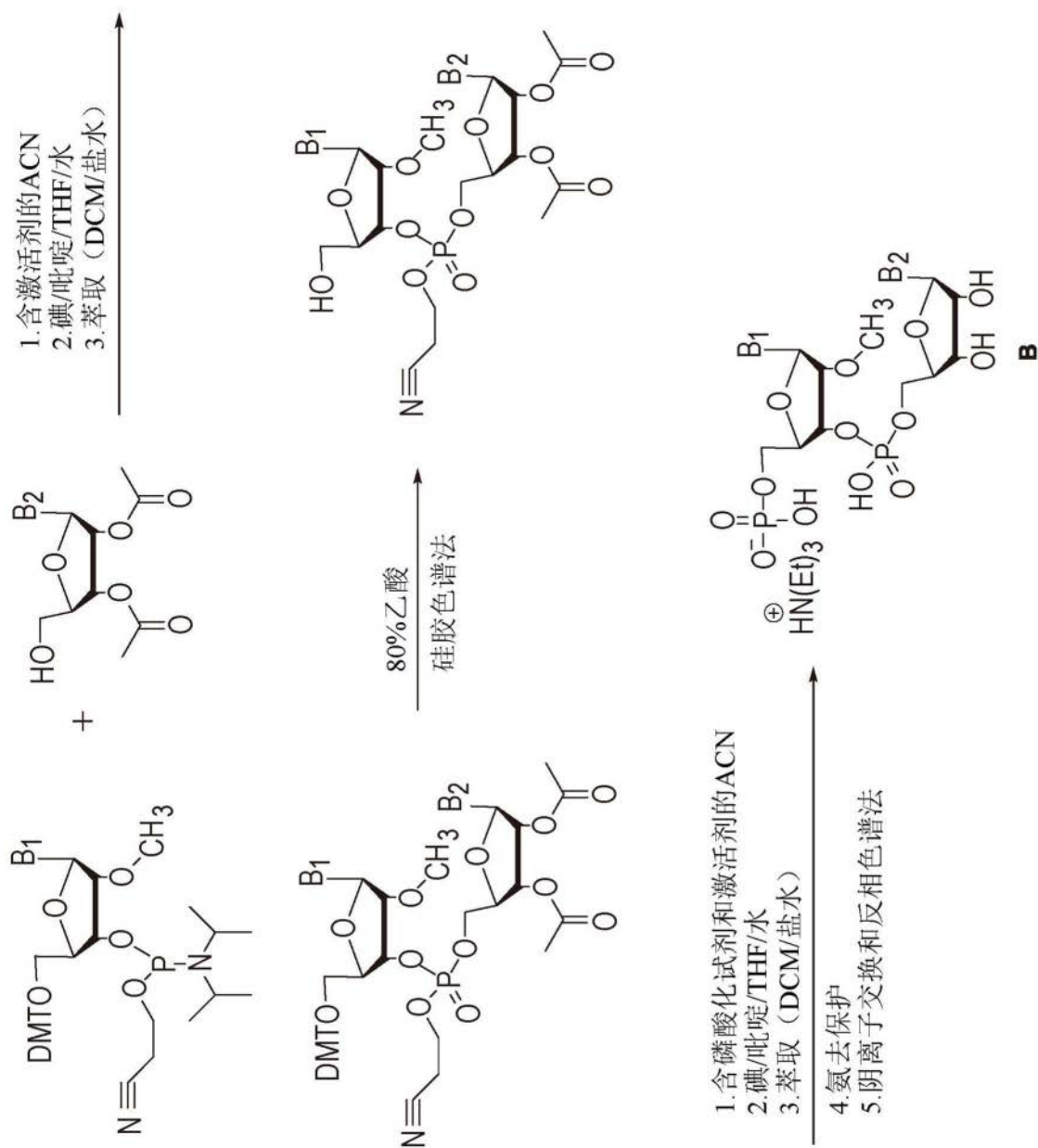


图6

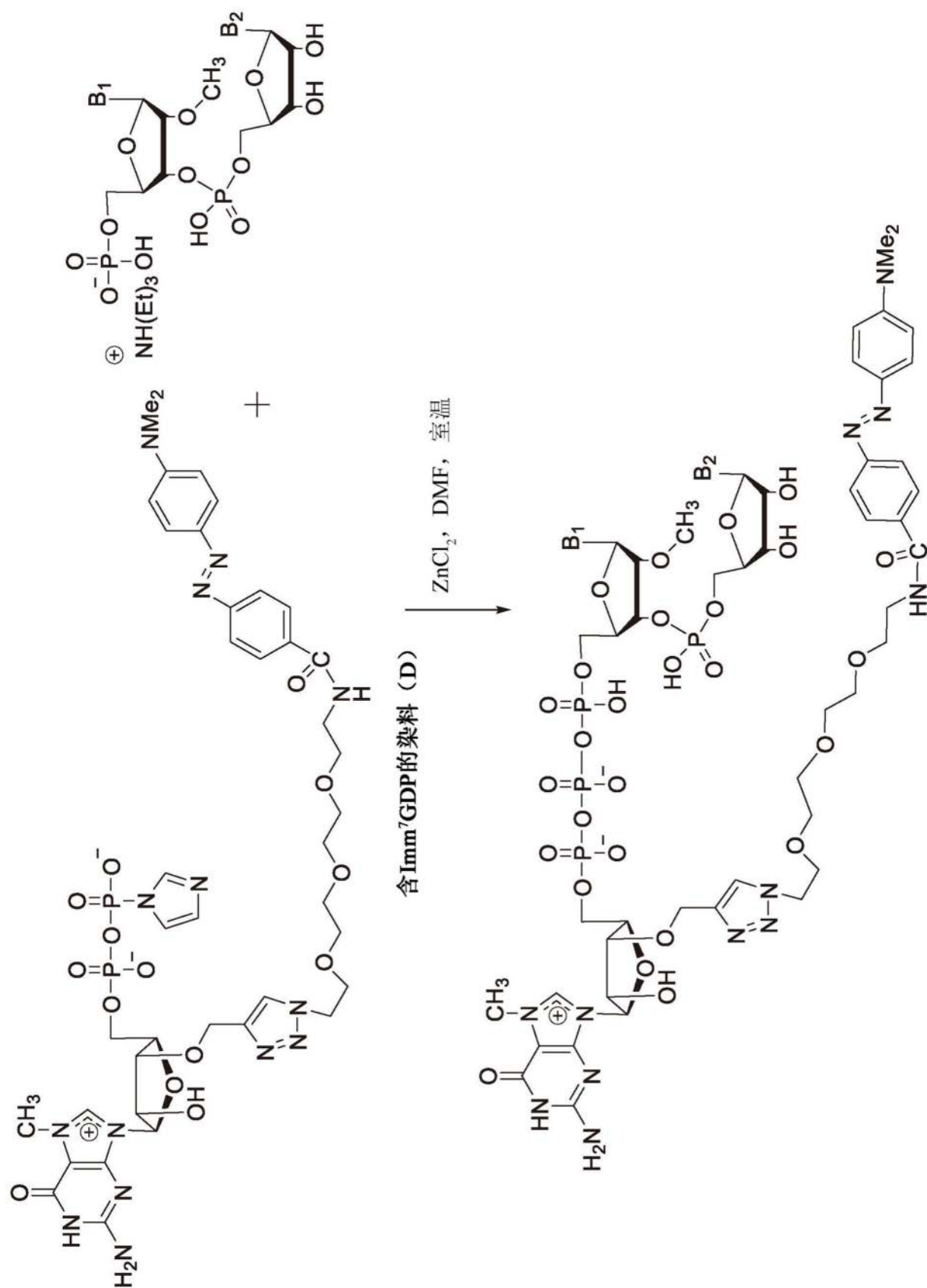


图7

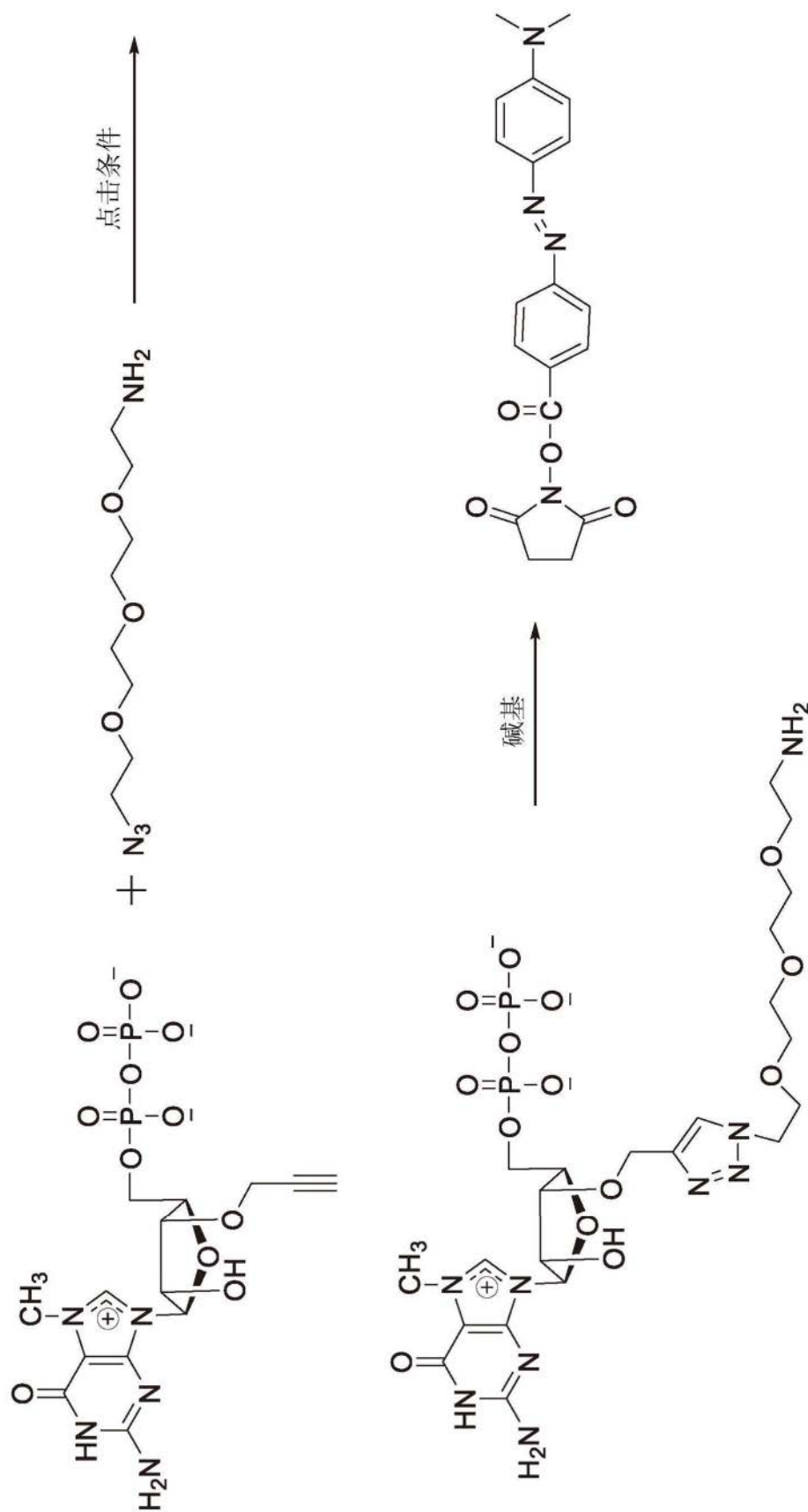


图8A

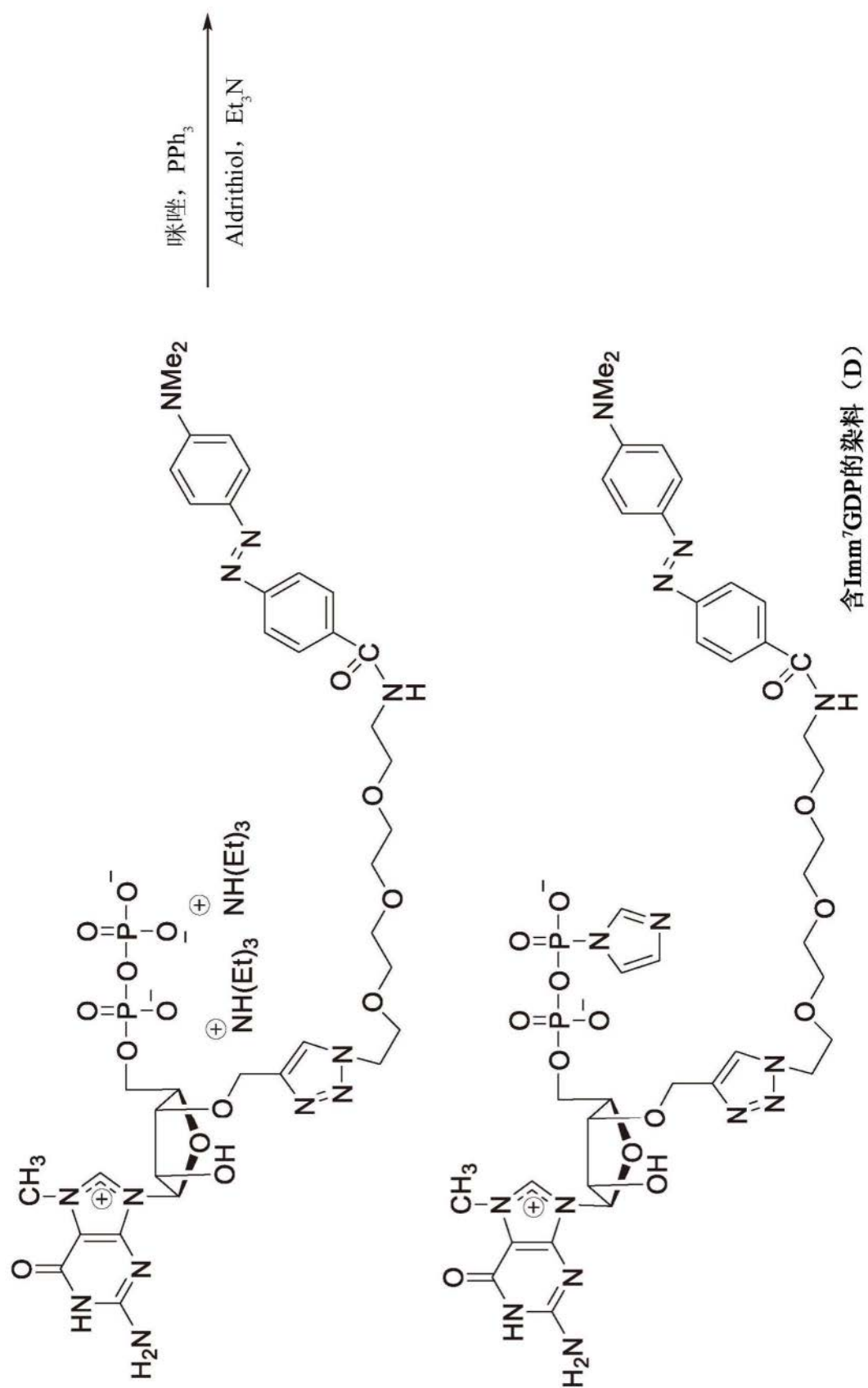


图8B

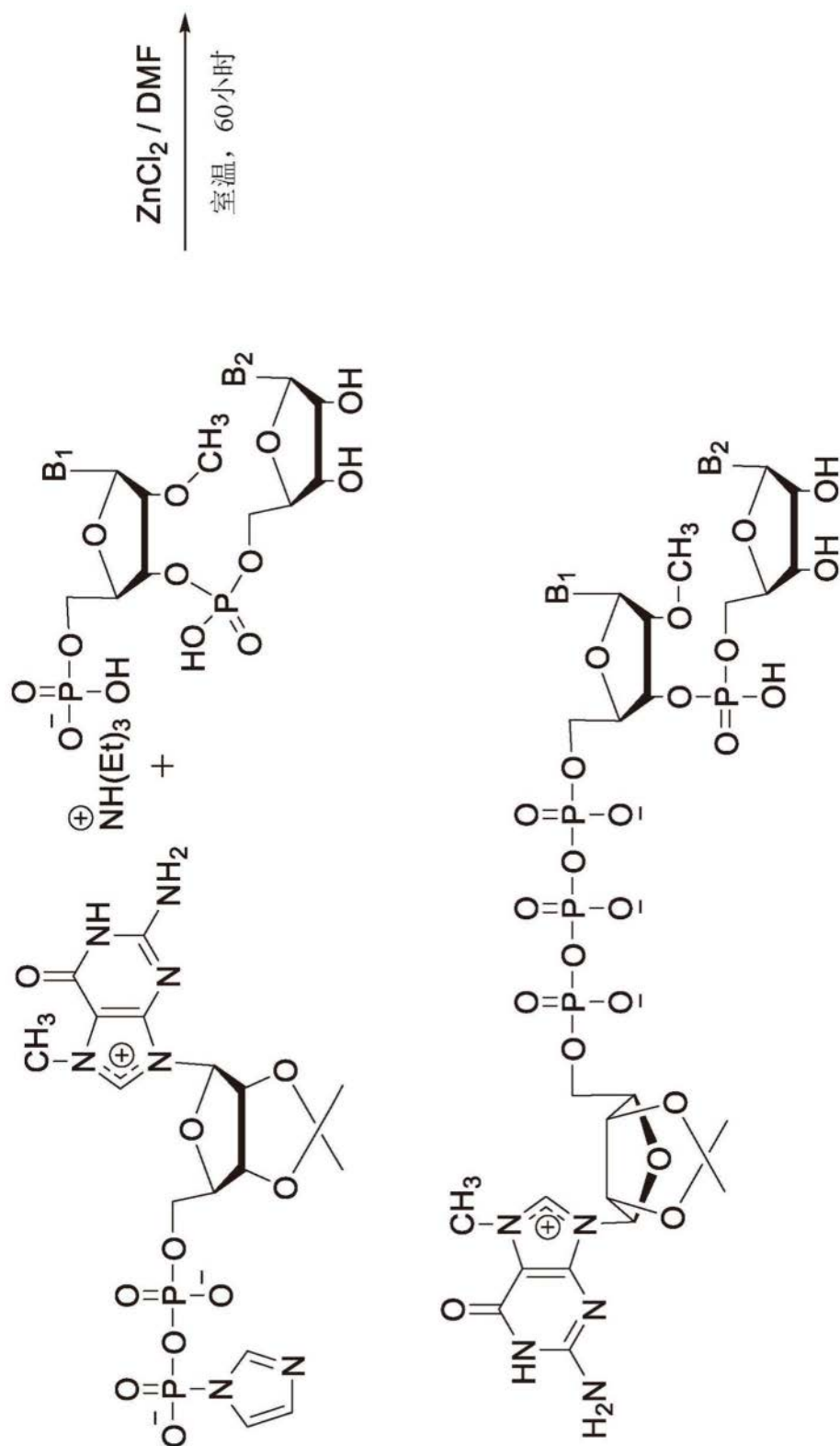


图9

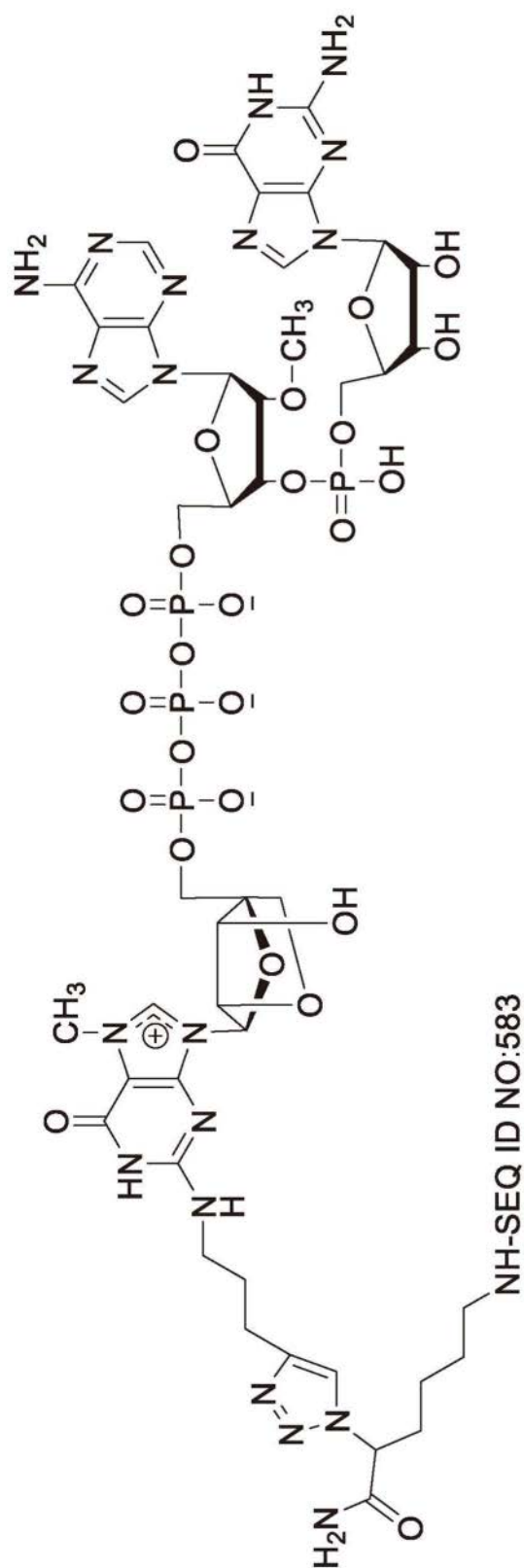


图10

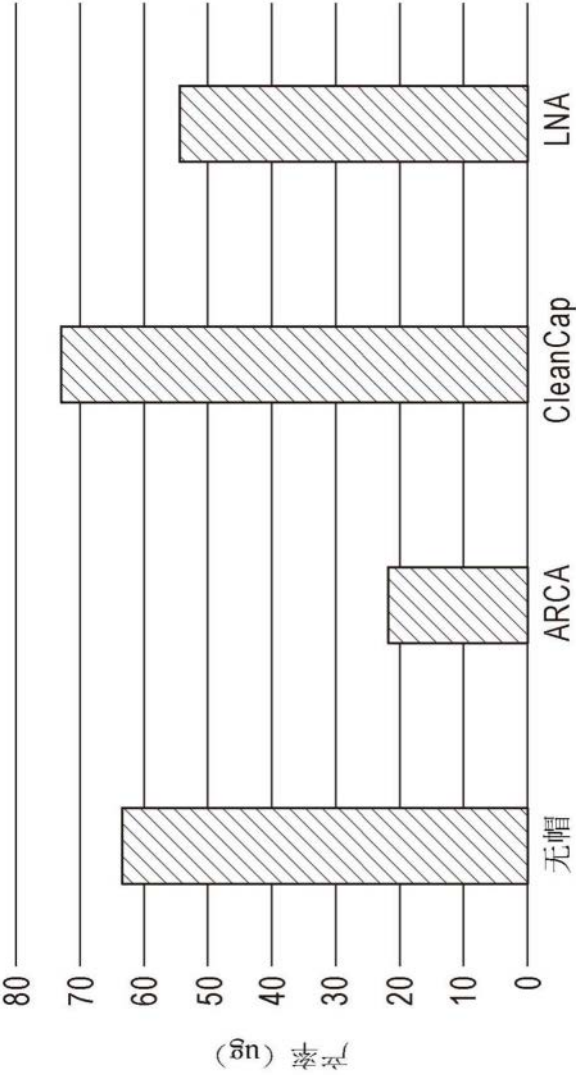


图11

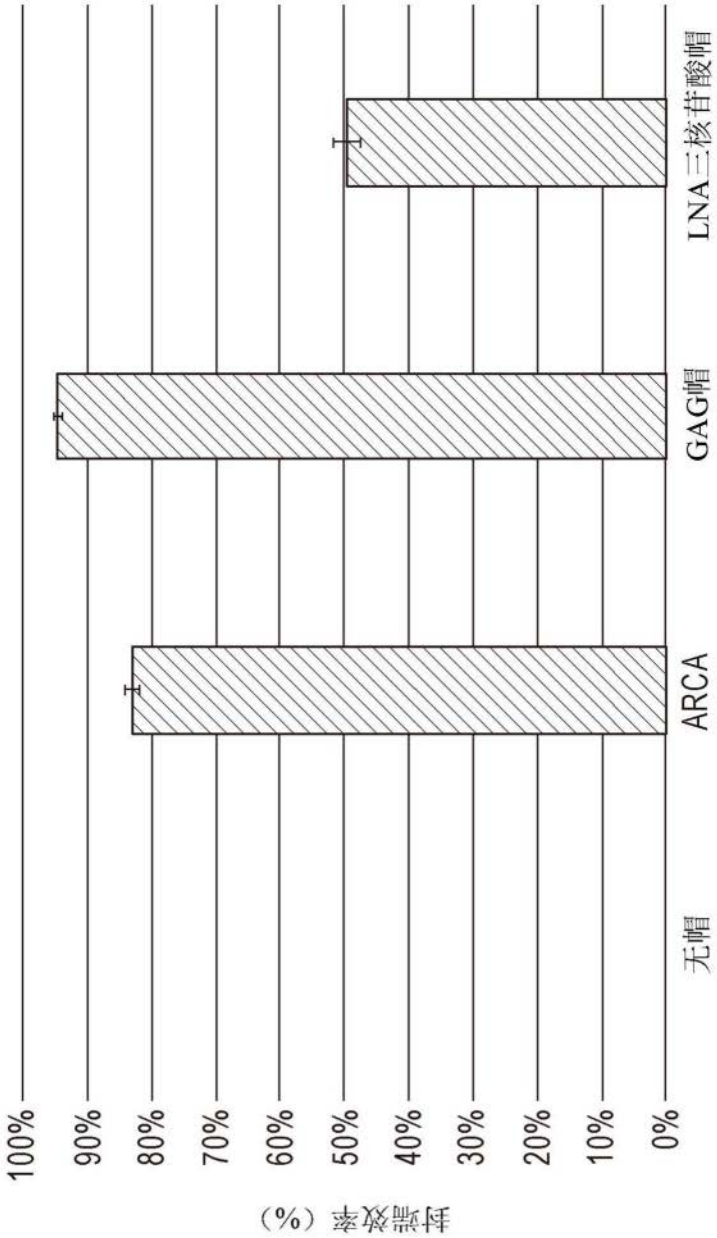


图12

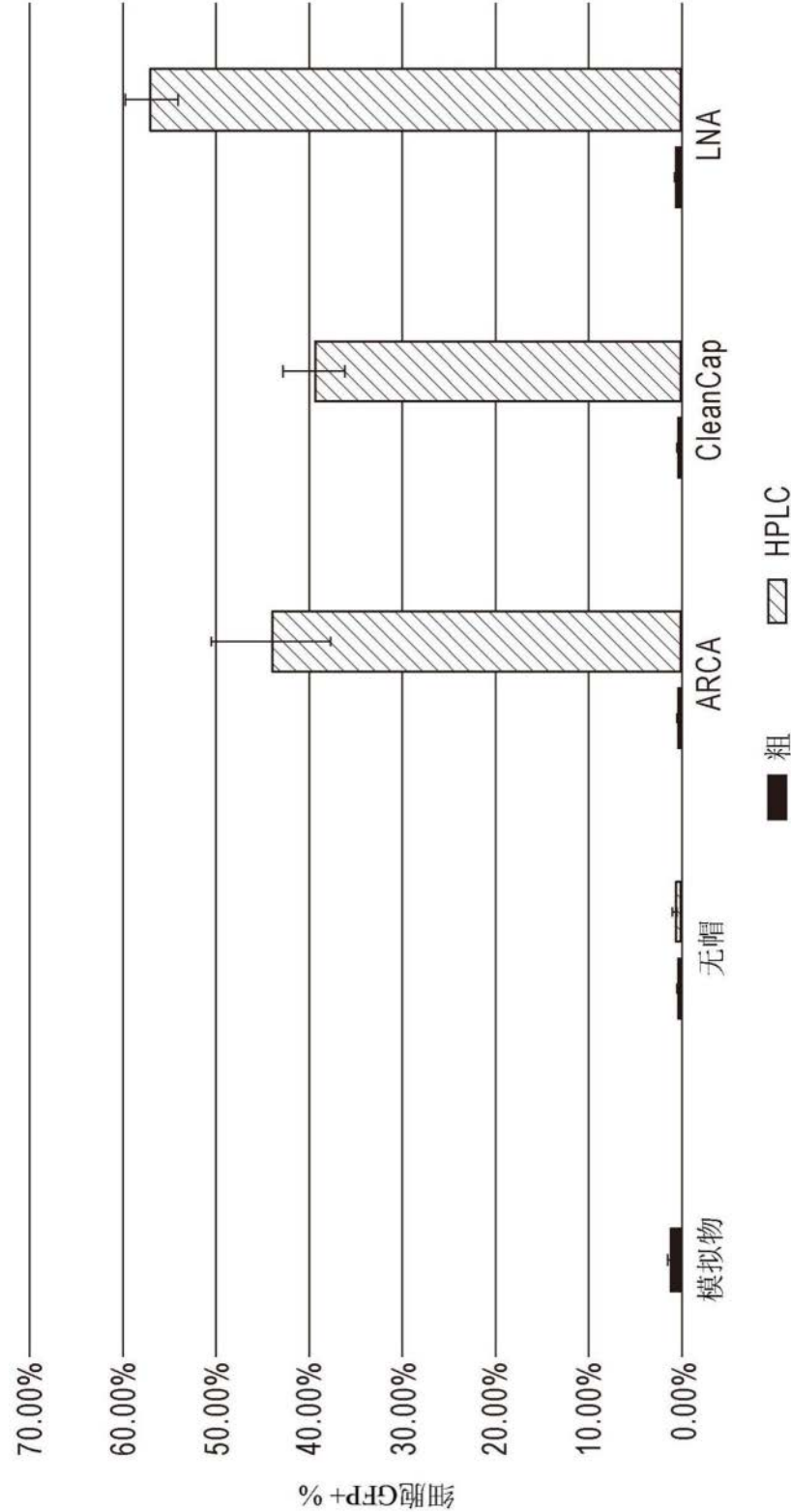


图13

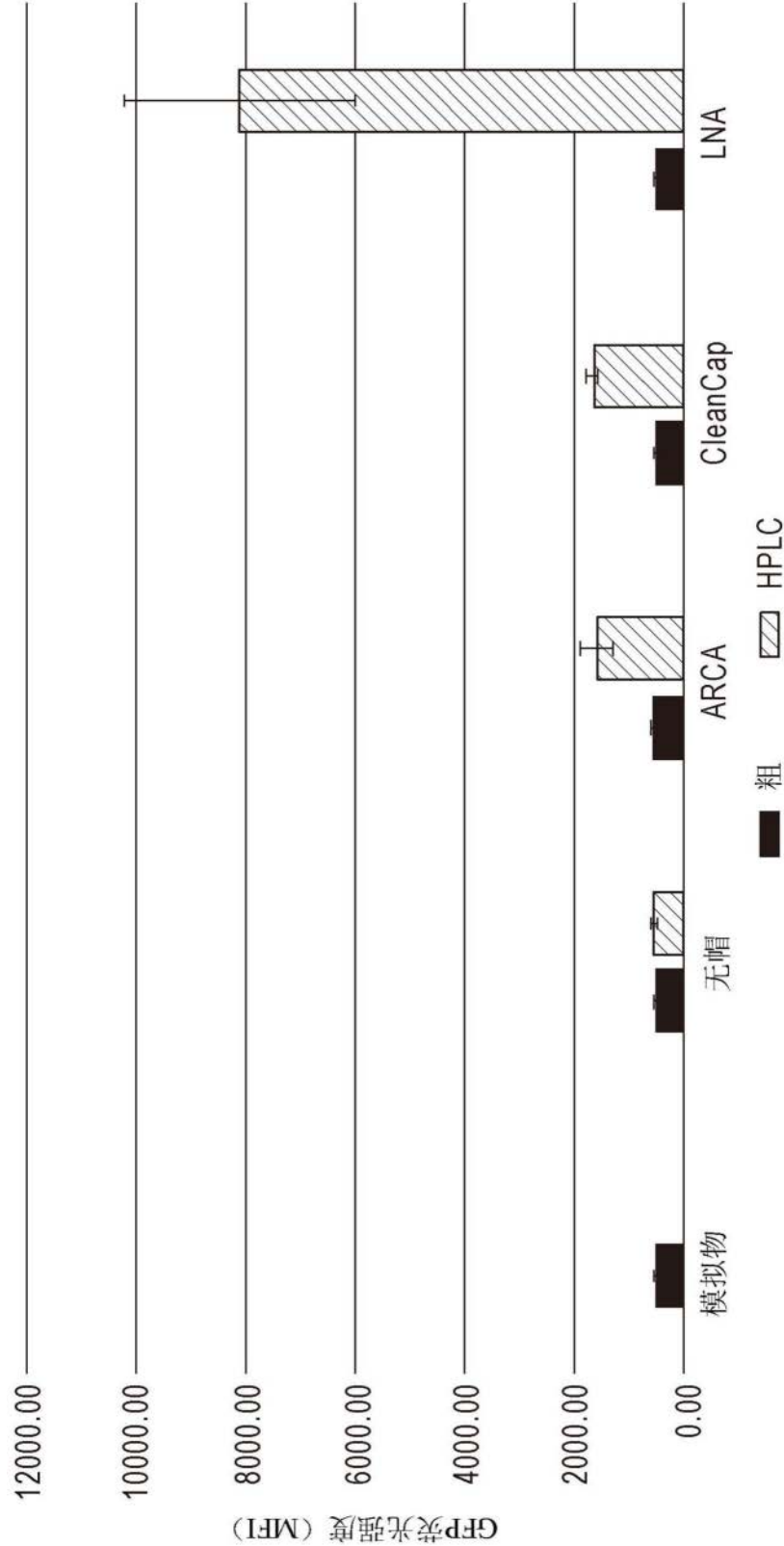


图14

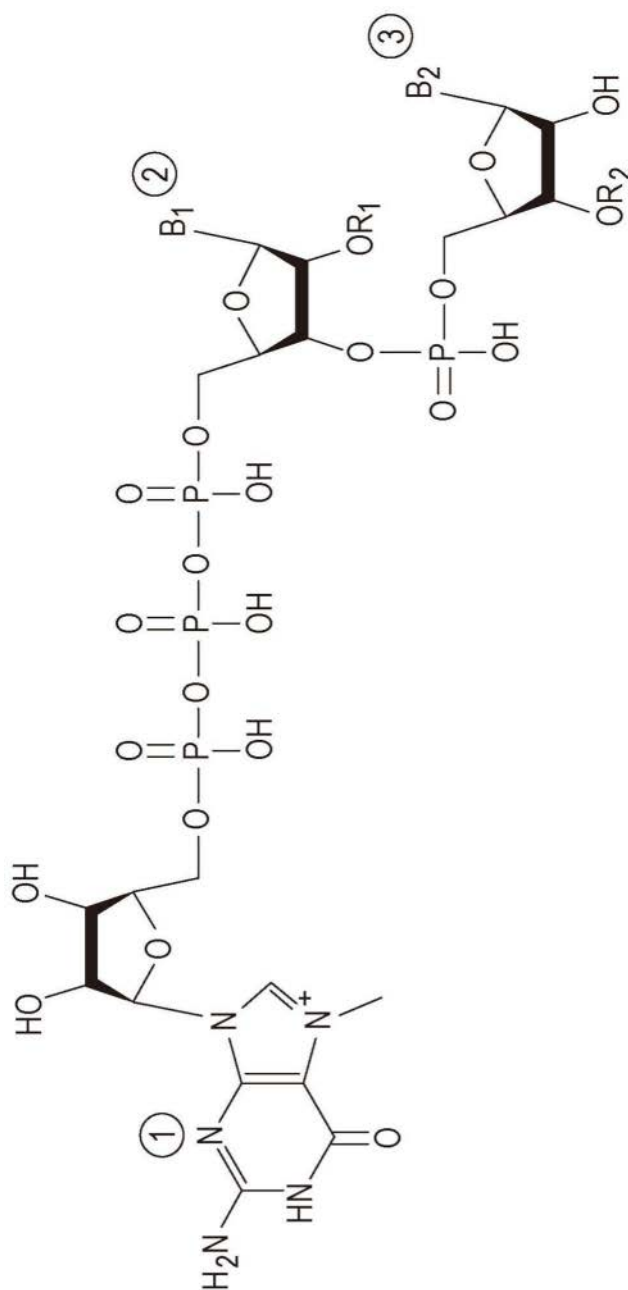


图15

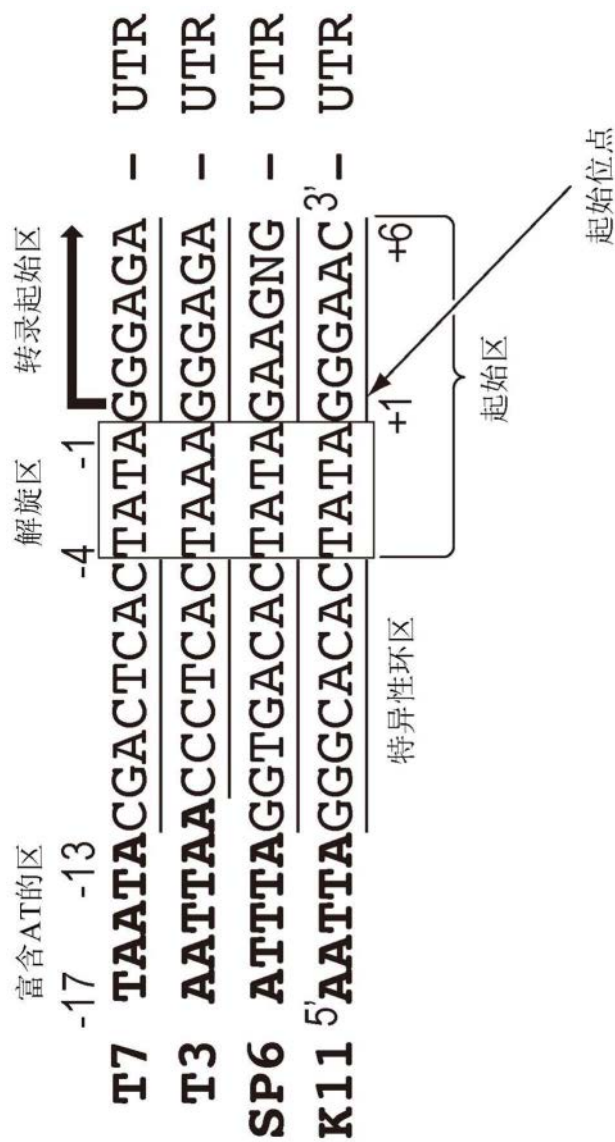


图16

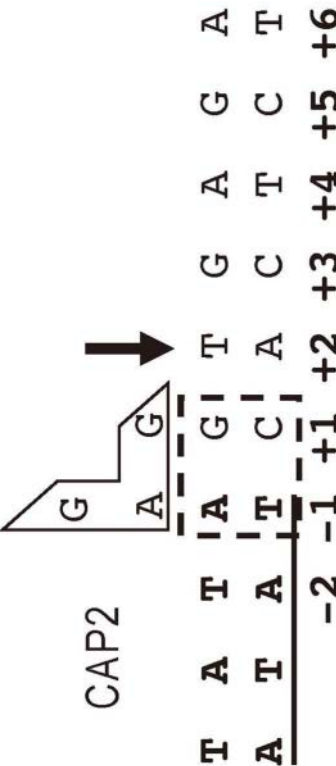


图19

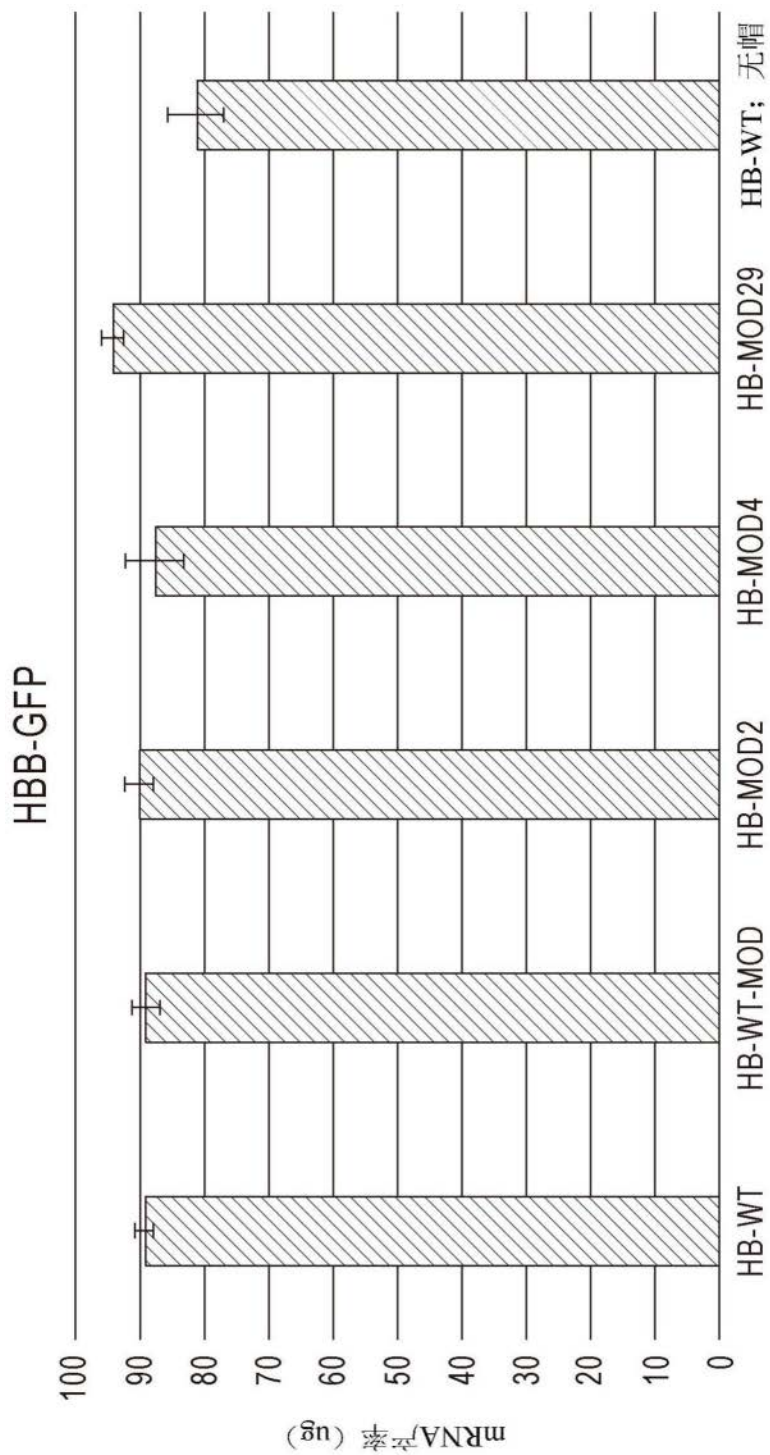


图20