



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116457373 A

(43) 申请公布日 2023. 07. 18

(21) 申请号 202180072567.8

(22) 申请日 2021.10.29

(30) 优先权数据

63/107,415 2020.10.29 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.04.24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2021/057380 2021.10.29

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/094295 EN 2022.05.05

(71) 申请人 再生生物股份有限公司

地址 美国马里兰

(72) 发明人 X·王 D·麦克多加尔德

J·布鲁德尔 Y·刘 O·达诺斯

C·乔 W-H·李

(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 陈晓娜

(51) Int.Cl.

C07K 19/00 (2006.01)

权利要求书5页 说明书69页
序列表129页 附图10页

(54) 发明名称

用于眼部适应症的载体化TNF- α 拮抗剂

(57) 摘要

提供了用于递送完全人翻译后修饰的治疗性TNF受体Fc融合物的方法和组合物。所述完全人翻译后修饰的治疗性TNF受体Fc融合物能够通过基因疗法方法例如作为重组腺相关病毒(rAAV)载体被递送至适当的组织。还提供了用所述完全人翻译后修饰的治疗性TNF受体Fc融合物治疗眼部适应症诸如非感染性葡萄膜炎的方法。

1. 一种用于治疗有需要的人受试者的非感染性葡萄膜炎的药物组合物,所述药物组合物包含腺相关病毒(AAV)载体,所述AAV载体具有:

(a) 对眼组织细胞具有嗜性的病毒衣壳;以及

(b) 包含侧接AAV内部串联重复序列(ITR)的表达盒的人工基因组,其中所述表达盒包含编码抗TNF α Fc融合蛋白的转基因,所述转基因可操作地连接至控制所述转基因在人眼细胞中表达的一个或多个调控序列;

其中所述AAV载体被配制用于视网膜下、玻璃体内、鼻内、前房内、脉络膜上腔或全身施用于所述人受试者。

2. 如权利要求1所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白包含人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,所述可溶性细胞外部分通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接。

3. 如权利要求1或2所述的药物组合物,其中所述病毒衣壳与AAV血清型1(AAV1)、血清型2(AAV2)、血清型AAV2.7m8(AAV2.7m8)、血清型3(AAV3)、血清型3B(AAV3B)、血清型4(AAV4)、血清型5(AAV5)、血清型6(AAV6)、血清型7(AAV7)、血清型8(AAV8)、血清型rh8(AAVrh8)、血清型9(AAV9)、血清型9e(AAV9e)、血清型rh10(AAVrh10)、血清型rh20(AAVrh20)、血清型rh39(AAVrh39)、血清型hu.37(AAVhu.37)、血清型rh73(AAVrh73)或血清型rh74(AAVrh74)、血清型hu51(AAV.hu51)、血清型hu21(AAV.hu21)、血清型hu12(AAV.hu12)或血清型hu26(AAV.hu26)的氨基酸序列具有至少95%同一性。

4. 如权利要求1至3中任一项所述的药物组合物,其中所述AAV衣壳是AAV8、AAV3B、AAV2.7m8或AAVrh73。

5. 如权利要求1至4所述的药物组合物,其中所述眼组织细胞是角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、视网膜细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

6. 如权利要求1至5所述的药物组合物,其中所述调控序列包括来自表1或表1a的调控序列。

7. 如权利要求5所述的药物组合物,其中所述调控序列是人视紫红质激酶(GRK1)启动子(SEQ ID NO:54或117)、小鼠视锥阻遏蛋白(CAR)启动子(SEQ ID NO:114-116)、人红视蛋白(Red0)启动子(SEQ ID NO:112)、CB启动子(SEQ ID NO:159)、CB长启动子(SEQ ID NO:160)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161)。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的药物组合物,其中所述转基因编码在所述抗TNF α Fc融合蛋白的N端的指导所述人眼细胞中的分泌和翻译后修饰的信号序列。

9. 如权利要求8所述的药物组合物,其中所述信号序列是MYRMQLLLLIALLSLALVTNS(SEQ ID NO:62)或者来自表2的信号序列。

10. 如权利要求1至8中任一项所述的药物组合物,其中所述转基因从N端至C端具有以下结构:信号序列-可溶性TNFR细胞外结构域-铰链区-Fc结构域-PolyA。

11. 如权利要求10所述的组合物,其中所述转基因还包含在所述可溶性TNFR细胞外结构域的C端的SEQ ID NO:8的凝血酶切割位点。

12. 如权利要求1至11中任一项所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白被表达为二聚体融合蛋白。

13. 如权利要求1至12中任一项所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是依

那西普或EYS606。

14. 如权利要求1至13中任一项所述的药物组合物,其中所述转基因包含SEQ ID NO: 13-18的核苷酸序列。

15. 如权利要求1至14中任一项所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白具有SEQ ID NO:10、11或12的氨基酸序列。

16. 如权利要求1至15中任一项所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是高糖基化突变体,或者其中所述抗TNF α Fc融合蛋白的所述Fc多肽是糖基化的或无糖基化的。

17. 如权利要求1至16中任一项所述的药物组合物,其中所述Fc结构域是IgG1-Fc结构域。

18. 如权利要求1至17中任一项所述的药物组合物,其中所述人工基因组是自身互补的。

19. 如权利要求1至18中任一项所述的药物组合物,其中所述人工基因组是构建体CAG. 依那西普(SEQ ID NO:15)或mU1a.Vh4i. 依那西普.scAAV(SEQ ID NO:17)。

20. 一种包含腺相关病毒(AAV)载体的组合物,所述AAV载体具有:

a. 病毒AAV衣壳,所述病毒AAV衣壳任选地与AAV血清型1(AAV1)、血清型2(AAV2)、血清型AAV2.7m8(AAV2.7m8)、血清型3(AAV3)、血清型3B(AAV3B)、血清型4(AAV4)、血清型5(AAV5)、血清型6(AAV6)、血清型7(AAV7)、血清型8(AAV8)、血清型rh8(AAVrh8)、血清型9(AAV9)、血清型9e(AAV9e)、血清型rh10(AAVrh10)、血清型rh20(AAVrh20)、血清型rh39(AAVrh39)、血清型hu.37(AAVhu.37)、血清型rh73(AAVrh73)或血清型rh74(AAVrh74)、血清型hu51(AAV.hu51)、血清型hu21(AAV.hu21)、血清型hu12(AAV.hu12)或血清型hu26(AAV.hu26)的氨基酸序列具有至少95%同一性。

b. 包含侧接AAV反向末端重复序列(ITR)的表达盒的人工基因组,其中所述表达盒包含编码抗TNF- α Fc融合蛋白的转基因,所述TNF- α Fc融合蛋白包含人可溶性TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)细胞外结构域,所述细胞外结构域通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接,所述转基因可操作地连接至促进所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列;

其中所述转基因编码在所述抗TNF α Fc融合蛋白的N端的指导所述抗TNF α Fc融合物在眼组织细胞中的分泌和翻译后修饰的信号序列。

21. 如权利要求20所述的组合物,其中所述转基因还包含在所述可溶性人TNFR细胞外结构域的C端的SEQ ID NO:8的凝血酶切割位点。

22. 如权利要求20或21中任一项所述的组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白具有SEQ ID NO:10、11或12的氨基酸序列。

23. 如权利要求20至22所述的组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是依那西普或EYS606。

24. 如权利要求20至23所述的组合物,其中所述眼组织细胞是角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、视网膜细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

25. 如权利要求20至24所述的组合物,其中所述转基因包含SEQ ID NO:13或14的核苷酸序列。

26. 如权利要求20至25所述的组合物,其中所述信号序列是MYRMQLLLIALLSLALVTNS

(SEQ ID NO:62)或者来自表2或表3的信号序列。

27.如权利要求20至26中任一项所述的组合物,其中所述人工基因组是自身互补的。

28.如权利要求20至27中任一项所述的组合物,其中所述人工基因组是构建体CAG.依那西普(SEQ ID NO:15或16)或mU1a.Vh4i.依那西普.scAAV(SEQ ID NO:17或18)。

29.一种治疗有需要的人受试者的非感染性葡萄膜炎的方法,所述方法包括向所述受试者视网膜下、玻璃体内、鼻内、前房内、脉络膜上腔或全身施用治疗有效量的包含重组AAV的组合物,所述重组AAV包含编码抗TNF α Fc融合蛋白的转基因,所述转基因可操作地连接至控制所述转基因在眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列。

30.一种治疗有需要的人受试者的非感染性葡萄膜炎的方法,所述方法包括:向所述受试者视网膜下、玻璃体内、鼻内、前房内、脉络膜上腔或全身施用治疗有效量的重组核苷酸表达载体,所述重组核苷酸表达载体包含编码抗TNF α Fc融合蛋白的转基因,所述转基因可操作地连接至控制所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列,使得形成释放人翻译后修饰(HuPTM)形式的抗TNF α Fc融合蛋白的贮库。

31.如权利要求29和30所述的方法,其中所述眼组织细胞是角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、视网膜细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

32.如权利要求29至31所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白包含与IgG Fc结构域共价连接的人可溶性TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)细胞外结构域。

33.如权利要求29至32所述的方法,其中所述转基因是依那西普或EYS606。

34.如权利要求29至33所述的方法,其中所述转基因具有SEQ ID NO:13-18的核苷酸序列。

35.如权利要求29至34所述的方法,其中所述病毒衣壳与AAV血清型1(AAV1)、血清型2(AAV2)、血清型AAV2.7m8、血清型3(AAV3)、血清型3B(AAV3B)、血清型4(AAV4)、血清型5(AAV5)、血清型6(AAV6)、血清型7(AAV7)、血清型8(AAV8)、血清型rh8(AAVrh8)、血清型9(AAV9)、血清型9e(AAV9e)、血清型rh10(AAVrh10)、血清型rh20(AAVrh20)、血清型rh39(AAVrh39)、血清型hu.37(AAVhu.37)、血清型rh73(AAVrh73)或血清型rh74(AAVrh74)、血清型hu51(AAV.hu51)、血清型hu21(AAV.hu21)、血清型hu12(AAV.hu12)或血清型hu26(AAV.hu26)的氨基酸序列具有至少95%同一性。

36.如权利要求29至35中任一项所述的方法,其中所述AAV衣壳是AAV8、AAV2.7m8、AAV3B或AAVrh73。

37.如权利要求29至36中任一项所述的方法,其中所述调控序列包括来自表1或表1a的调控序列。

38.如权利要求37所述的方法,其中所述调控序列是人视紫红质激酶(GRK1)启动子(SEQ ID NO:54或117)、小鼠视锥阻遏蛋白(CAR)启动子(SEQ ID NO:114-116)或人红视蛋白(Red0)启动子(SEQ ID NO:112)。

39.如权利要求29至38中任一项所述的方法,其中所述转基因编码在所述抗TNF α Fc融合蛋白的N端的指导所述人眼组织细胞中的分泌和翻译后修饰的信号序列。

40.如权利要求39所述的方法,其中所述信号序列是MYRMQLLLLIALLSLALVTNS(SEQ ID NO:62)或者来自表2或表3的信号序列。

41.如权利要求25至40中任一项所述的方法,其中所述转基因具有以下结构:信号序

列-9人可溶性TNFR细胞外结构域(1型或2型)-铰链区-Fc结构域-PolyA。

42. 如权利要求41所述的方法,其中所述转基因还包含在所述人可溶性TNFR细胞外结构域的C端的具有SEQ ID NO:8的凝血酶切割位点。

43. 如权利要求29至42中任一项所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是高糖基化突变体,或者其中所述抗TNF α Fc融合蛋白的所述Fc结构域是糖基化的或无糖基化的。

44. 如权利要求29至43中任一项所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白含有 α 2,6-唾液酸化聚糖。

45. 如权利要求29至44中任一项所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是糖基化的,但不含有可检测的NeuGc和/或 α -Gal。

46. 如权利要求29至45中任一项所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白含有酪氨酸硫酸化。

47. 如权利要求29至46中任一项所述的方法,其中所述HuPTM形式的所述抗TNF α Fc融合蛋白的产生通过用所述重组核苷酸表达载体转导培养的人眼细胞并表达所述抗TNF α Fc融合蛋白来证实。

48. 如权利要求29或47所述的方法,其中所述治疗有效量被确定为足以使最佳矫正视力(BCVA)提高 ≥ 2 个ETDRS行或增加logMAR、根据SUN分类降低前房和后房的炎性活性以及/或者降低玻璃体混浊的等级。

49. 如权利要求29至48中任一项所述的方法,其中所述rAAV是自身互补的。

50. 如权利要求29至49中任一项所述的方法,其中所述转基因在构建体CAG.依那西普或mU1a.Vh4i.依那西普.scAAV内。

51. 一种产生重组AAV的方法,所述方法包括:

(c) 培养宿主细胞,所述宿主细胞含有:

(i) 人工基因组,所述人工基因组包含侧接AAV ITR的顺式表达盒,其中所述顺式表达盒包含编码抗TNF α Fc融合蛋白的转基因,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白包含人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,所述可溶性细胞外部分通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接,所述转基因可操作地连接至促进所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列;

(ii) 缺少AAV ITR的反式表达盒,其中所述反式表达盒编码AAV rep和AAV衣壳蛋白,所述AAV rep和AAV衣壳蛋白可操作地连接至驱动所述AAV rep和AAV衣壳蛋白在培养的所述宿主细胞中表达并反式提供所述AAV rep和AAV衣壳蛋白的表达控制元件,其中所述衣壳具有眼组织嗜性;

(iii) 足够的腺病毒辅助功能,以允许所述AAV衣壳蛋白复制和包装所述人工基因组;以及

(d) 从所述细胞培养物中回收包裹所述人工基因组的重组AAV。

52. 如权利要求51所述的方法,其中所述眼组织细胞是角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、视网膜细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

53. 如权利要求51或52所述的方法,其中所述转基因编码依那西普或EYS606,其中所述AAV衣壳蛋白是根据实施方案1所述的rAAV衣壳蛋白,其中所述衣壳蛋白来自AAV血清型1(AAV1)、血清型2(AAV2)、血清型2.7m8、血清型3(AAV3)、血清型3B(AAV3B)、血清型4(AAV4)、

血清型5 (AAV5)、血清型6 (AAV6)、血清型7 (AAV7)、血清型8 (AAV8)、血清型rh8 (AAVrh8)、血清型9 (AAV9)、血清型9e (AAV9e)、血清型rh10 (AAVrh10)、血清型rh20 (AAVrh20)、血清型rh39 (AAVrh39)、血清型hu.37 (AAVhu.37)、血清型rh73 (AAVrh73)或血清型rh74 (AAVrh74)、血清型hu51 (AAV.hu51)、血清型hu21 (AAV.hu21)、血清型hu12 (AAV.hu12)或血清型hu26 (AAV.hu26)中的至少一种AAV血清型。

54. 一种宿主细胞,所述宿主细胞含有:

d. 人工基因组,所述人工基因组包含侧接AAV ITR的顺式表达盒,其中所述顺式表达盒包含编码抗TNF α 融合蛋白的转基因,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白包含人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,所述可溶性细胞外部分通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接,所述转基因可操作地连接至促进所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列;

e. 缺少AAV ITR的反式表达盒,其中所述反式表达盒编码AAV rep和AAV衣壳蛋白,所述AAV rep和AAV衣壳蛋白可操作地连接至驱动所述AAV rep和AAV衣壳蛋白在培养的所述宿主细胞中表达并反式提供所述AAV rep和AAV衣壳蛋白的表达控制元件,其中所述衣壳具有眼组织嗜性;

f. 足够的腺病毒辅助功能,以允许所述AAV衣壳蛋白复制和包装所述人工基因组。

55. 如权利要求54所述的宿主细胞,其中所述转基因编码依那西普或EYS606。

56. 如权利要求53或54所述的宿主细胞,其中所述AAV衣壳蛋白是AAV血清型1 (AAV1)、血清型2 (AAV2)、血清型2.7m8 (AAV2.7m8)、血清型3 (AAV3)、血清型3B (AAV3B)、血清型4 (AAV4)、血清型5 (AAV5)、血清型6 (AAV6)、血清型7 (AAV7)、血清型8 (AAV8)、血清型th8 (AAVrh8)、血清型9 (AAV9)、血清型9e (AAV9e)、血清型rh10 (AAVrh10)、血清型rh20 (AAVrh20)、血清型rh39 (AAVrh39)、血清型hu.37 (AAVhu.37)、血清型rh73 (AAVrh73)或血清型rh74 (AAVrh74)、血清型hu51 (AAV.hu51)、血清型hu21 (AAV.hu21)、血清型hu12 (AAV.hu12)或血清型hu26 (AAV.hu26)。

用于眼部适应症的载体化TNF- α 拮抗剂

[0001] 1. 引言

[0002] 描述了用于将与肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 结合的完全人翻译后修饰的 (HuPTM) 治疗性肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 融合蛋白递送至被诊断患有非感染性葡萄膜炎的人受试者的组合物和方法。

2. 背景技术

[0003] 治疗性抗TNF α Fc融合蛋白已被证明可有效治疗多种疾病和疾患。然而,由于这些剂仅在短时间内有效,因此通常需要长时间反复注射,从而给患者造成相当大的治疗负担。

[0004] 葡萄膜炎包括一组以葡萄膜的炎症为特征的异质性疾病。葡萄膜炎通常可根据炎症的病因分类为感染性葡萄膜炎或非感染性葡萄膜炎(自身免疫性病症),这可能与全身性疾病有关或无关。另外,葡萄膜炎可以在解剖学上分类为前葡萄膜炎、中间葡萄膜炎、后葡萄膜炎或全葡萄膜炎,并且它们可能具有急性、慢性或复发性病程。临床表现多种多样,症状可包括视力模糊、畏光、眼痛和明显的视力受损 (Valenzuela等人,Front Pharmacol.2020;11:655)。

[0005] 非感染性葡萄膜炎是一种以葡萄膜(虹膜、睫状体和脉络膜)的炎症为特征的威胁视力的严重眼内炎性疾患。非感染性葡萄膜炎被认为是由对眼部抗原的免疫介导反应引起的,并且是发达国家工作年龄人口中不可逆转失明的主要原因。葡萄膜炎治疗的目标是控制炎症、防止复发和保护视力,以及尽量减少药物的不利作用。目前,非感染性葡萄膜炎的护理标准包括施用皮质类固醇作为一线剂,但在一些情况下需要更积极的疗法。这包括合成免疫抑制剂,诸如抗代谢物(甲氨蝶呤、霉酚酸酯和硫唑嘌呤)、钙调磷酸酶抑制剂(环孢菌素、他克莫司)和烷化剂(环磷酰胺、苯丁酸氮芥)。在对皮质类固醇和常规免疫抑制治疗变得不耐受或难治的那些患者中,基于靶向疾病发病机制中涉及的相关免疫学途径,生物剂已成为儿童和成人葡萄膜炎的有效疗法。目前的免疫调节疗法包括用mAb(诸如英夫利昔单抗(infliximab)、阿达木单抗(adalimumab)、戈利木单抗(golimumab)和聚乙二醇化赛妥珠单抗(certolizumab-pegol))或用TNF受体融合蛋白依那西普实现对TNF α 的抑制。在这方面,抗TNF剂(英夫利昔单抗和阿达木单抗)已在有利的结果方面显示出最强的结果。阿达木单抗已被批准每隔一周通过皮下施用来治疗非感染性葡萄膜炎。当常规免疫抑制治疗和/或抗TNF- α 治疗失败时,建议使用其他生物剂。

[0006] EYS606编码将TNF α p55受体1 (TNFR1) 连接至IgG1免疫球蛋白分子的Fc部分的重组融合蛋白。目前正在研究EYS606作为非病毒基因疗法用于治疗非感染性后葡萄膜炎、中间葡萄膜炎或全葡萄膜炎。EYS606通过电转移在患者的睫状肌中施用。

[0007] 依那西普是一种二聚体融合蛋白,由与IgG1免疫球蛋白分子的Fc部分融合的人p75 TNF α 受体 (TNFR2) 的两个细胞外结构域 (TNFR:Fc) 组成,并且可用于治疗多种自身免疫炎性疾病,包括类风湿性关节炎、克罗恩病和银屑病性关节炎。依那西普以每周一次50mg或每周两次25mg的剂量皮下施用 (Valenzuela等人,Front Pharmacol.2020;11:655)。

[0008] 需要更有效的治疗来减轻患有非感染性葡萄膜炎的患者的治疗负担。玻璃体内药

物已成为葡萄膜炎患者的一种有前途的药物施用模式,因为它们向靶组织提供大量药物,从而消除全身毒性的风险。减少或消除定期眼部施用的需要将减轻患者负担并改善疗法。

3. 发明内容

[0009] 通过基因疗法递送的生物抑制剂与注射或输注的治疗性生物抑制剂相比具有若干优点,所述治疗性生物抑制剂会随时间消散,从而产生峰值和谷值水平。与反复注射生物抑制剂相反,转基因产物生物抑制剂的持续表达允许在作用部位存在更一致水平的生物抑制剂,并且由于需要进行更少的注射,对于患者而言风险更低且更方便。此外,由于翻译期间和翻译之后存在不同的微环境,从转基因表达的生物抑制剂的翻译后修饰方式与直接注射的方式不同。不受任何特定理论的束缚,这使得生物抑制剂具有不同的扩散、生物活性、分布、亲和力、药代动力学和免疫原性特性,因此与直接注射的生物制剂相比,递送至作用部位的抗体是“生物改良物(biobetter)”。全身施用(诸如从肝脏中的贮库(depot)表达)或另外将治疗剂局部递送至眼组织可以减少受试者暴露于治疗剂并降低潜在副作用的风险。因此,本文提供了用于抗TNF α 基因疗法、特别是重组AAV基因疗法的组合物和方法,它们被设计成靶向眼睛并生成用于表达抗TNF α Fc融合蛋白(TNFR:Fc)、特别是依那西普(TNFR2:Fc)和EYS606(TNFR1:Fc)的转基因的贮库,这使得在施用rAAV组合物的20天、30天、40天、50天、60天或90天内眼睛中产生治疗有效或预防水平的生物抑制剂。

[0010] 描述了用于将抗TNF α Fc融合蛋白全身递送至被诊断患有非感染性葡萄膜炎或指示用治疗性抗TNF α Fc融合蛋白治疗的其他疾患的患者(人受试者)的组合物和方法。递送可有利地经由基因疗法来完成,例如通过将编码治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的病毒载体或其他DNA表达构建体施用于被诊断患有指示用治疗性抗TNF α Fc融合蛋白治疗的疾患的受试者,以在患者的眼睛中(或在另选的实施方案中,在肝脏和/或肌肉中)产生将HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白(例如,人糖基化转基因产物)持续供应至受试者的适当眼组织(其中抗TNF α Fc融合蛋白发挥其治疗或预防作用)(包括经由循环)的永久贮库。

[0011] 用于递送转基因的重组载体包括非复制型重组腺相关病毒载体(“rAAV”)。在实施方案中,AAV类型对眼睛具有嗜性,例如AAV的AAV8亚型、AAV3B亚型、AAV2.7m8或AAVrh73亚型。然而,可使用其他病毒载体(包括但不限于慢病毒载体、痘苗病毒载体)或非病毒表达载体(称为“裸DNA”构建体)。转基因的表达可以由组成型或组织特异性表达控制元件、特别是作为眼组织特异性控制元件的元件(例如,表1或另选地表1a的一个或多个元件)控制。构建体还可包含指导表达的抗TNF α Fc融合蛋白的分泌的信号或前导肽,例如来自表2或表3或表4的肽。

[0012] 在某些实施方案中,由转基因编码的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白可以包括但不限于与TNF α 结合的TNFR:Fc融合蛋白,特别是依那西普(或其任何生物类似物版本)或EYS606,参见例如图2A和图2B。

[0013] 设计用于治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的基因疗法构建体,使得与Fc部分融合的可溶性TNFR(TNFR1或TNFR2)表达为二聚体融合蛋白(SEQ ID NO:10和12)。

[0014] 另外,从转基因体内表达的抗TNF α Fc融合蛋白不太可能含有与通过重组技术(诸如蛋白质聚集和蛋白质氧化)产生的生物制剂相关的降解产物。由于蛋白质浓度高、与制造设备和容器的表面相互作用以及利用某些缓冲系统的纯化,聚集是与蛋白质生产和储存相

关的问题。这些促进聚集的条件在基因疗法中的转基因表达中不存在。氧化(诸如甲硫氨酸、色氨酸和组氨酸氧化)也与蛋白质生产和储存相关,并且是由应激细胞培养条件、金属和空气接触以及缓冲液和赋形剂中的杂质引起的。从转基因体内表达的蛋白质也可在应激条件下氧化。然而,人和许多其他生物体具有抗氧化防御系统,该抗氧化防御系统不仅可以减少氧化应激,有时还可以修复和/或逆转氧化。因此,体内产生的蛋白质不太可能呈氧化形式。聚集和氧化都可能影响效力、药代动力学(清除率)和免疫原性。

[0015] 在人受试者的眼中产生HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白应产生用于经由基因疗法来完成的疾病治疗的“生物改良物”分子,例如通过将编码HuPTM抗TNF α 融合蛋白的病毒载体或其他DNA表达构建体施用于被诊断患有该Fc融合蛋白的疾病适应症的患者(人受试者),以在受试者体内产生持续供应由受试者的转导细胞产生的人糖基化的硫酸化转基因产物的永久贮库。HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的cDNA构建体应包括确保由转导的人细胞进行适当的共翻译和翻译后加工(糖基化和蛋白质硫酸化)的信号肽。

[0016] 作为基因疗法的替代或附加治疗,HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白可以通过重组DNA技术在人细胞系中产生,并且可以将糖蛋白施用于患者。

[0017] 本文提供的方法涵盖涉及将HuPTM抗TNF α 融合蛋白全身递送至患者并伴随施用其他可用治疗的联合疗法。附加治疗可在基因疗法治疗之前、与其同时或之后施用。此类附加治疗可以包括但不限于与治疗性抗TNF α Fc融合蛋白或抗TNF α mAb的共同疗法。

[0018] 还提供了制造病毒载体、特别是基于AAV的病毒载体的方法。在具体的实施方案中,提供了产生重组AAV的方法,所述方法包括培养含有人工基因组的宿主细胞,所述人工基因组包含:侧接AAV ITR的顺式表达盒,其中所述顺式表达盒包含编码治疗性抗体的转基因,所述转基因可操作地连接至将控制所述转基因在人细胞中表达的表达控制元件;缺少AAV ITR的反式表达盒,其中所述反式表达盒编码AAV rep和衣壳蛋白,所述AAV rep和衣壳蛋白可操作地连接至驱动所述AAV rep和衣壳蛋白在培养的所述宿主细胞中表达并反式提供所述rep和cap蛋白的表达控制元件;足够的腺病毒辅助功能,以允许所述AAV衣壳蛋白复制和包装所述人工基因组;以及从所述细胞培养物中回收包裹所述人工基因组的重组AAV。

[0019] 提供了包含rAAV载体的组合物,所述rAAV载体包含优化的表达盒,所述表达盒含有光感受器特异性启动子或其他合适的启动子,包括CAG启动子、Best1/GRK启动子(或表1或表1a中提供的其他启动子),以及表达转基因的密码子优化和CpG耗尽的转基因,例如抗TNF α 治疗性Fc融合蛋白(包括依那西普和EYS606)的可溶性TNFR(TNFR1或TNFR2)和Fc结构域(包括铰链,CH2和CH3结构域)。还提供了施用和制造的方法。具体地,提供了包含rAAV的组合物和方法,所述rAAV包含构建体CAG.依那西普或U1a.Vh4i.依那西普.scAAV(参见表7)。

[0020] 适合施用于人受试者的药物组合物包含重组载体在配制缓冲液中的悬浮液,所述配制缓冲液包含生理学上相容的水性缓冲液、表面活性剂和任选的赋形剂。

[0021] 3.1例示性实施方案

[0022] 1.一种用于治疗有需要的人受试者的非感染性葡萄膜炎的药物组合物,所述药物组合物包含腺相关病毒(AAV)载体,所述AAV载体具有:

[0023] (a)对眼组织细胞具有嗜性的病毒衣壳;以及

[0024] (b)包含侧接AAV内部串联重复序列(ITR)的表达盒的人工基因组,其中所述表达

盒包含编码抗TNF α Fc融合蛋白的转基因,所述转基因可操作地连接至控制所述转基因在人眼细胞中表达的一个或多个调控序列;

[0025] 其中所述AAV载体被配制用于视网膜下、玻璃体内、鼻内、前房内、脉络膜上腔或全身施用于所述人受试者。

[0026] 2.如段落1所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白包含人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,所述可溶性细胞外部分通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接。

[0027] 3.如段落1或2所述的药物组合物,其中所述病毒衣壳与AAV血清型1(AAV1)、血清型2(AAV2)、血清型AAV2.7m8(AAV2.7m8)、血清型3(AAV3)、血清型3B(AAV3B)、血清型4(AAV4)、血清型5(AAV5)、血清型6(AAV6)、血清型7(AAV7)、血清型8(AAV8)、血清型rh8(AAVrh8)、血清型9(AAV9)、血清型9e(AAV9e)、血清型rh10(AAVrh10)、血清型rh20(AAVrh20)、血清型rh39(AAVrh39)、血清型hu.37(AAVhu.37)、血清型rh73(AAVrh73)、血清型rh74(AAVrh74)、血清型hu51(AAV.hu51)、血清型hu21(AAV.hu21)、血清型hu12(AAV.hu12)或血清型hu26(AAV.hu26)的氨基酸序列具有至少95%同一性。

[0028] 4.如段落1至3中任一项所述的药物组合物,其中所述AAV衣壳是AAV8、AAV3B、AAV2.7m8或AAVrh73。

[0029] 5.如段落1至4所述的药物组合物,其中所述眼组织细胞是角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、视网膜细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

[0030] 6.如段落1至5所述的药物组合物,其中所述调控序列包括来自表1或表1b的调控序列。

[0031] 7.如段落5所述的药物组合物,其中所述调控序列是人视紫红质激酶(GRK1)启动子(SEQ ID NO:54或117)、小鼠视锥阻遏蛋白(CAR)启动子(SEQ ID NO:114-116)、人红视蛋白(Red0)启动子(SEQ ID NO:112)、CB启动子(SEQ ID NO:159)、CB长启动子(SEQ ID NO:160)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161)。

[0032] 8.如段落1至7中任一项所述的药物组合物,其中所述转基因编码在所述抗TNF α Fc融合蛋白的N端的指导所述人眼细胞中的分泌和翻译后修饰的信号序列。

[0033] 9.如段落8所述的药物组合物,其中所述信号序列是MYRMQLLLLIALLSLALVTNS(SEQ ID NO:62)或者来自表2、表3或表4的信号序列。

[0034] 10.如段落1至8中任一项所述的药物组合物,其中所述转基因从N端至C端具有以下结构:信号序列-可溶性TNFR细胞外结构域-铰链区-Fc结构域-PolyA。

[0035] 11.如段落10所述的组合物,其中所述转基因还包含在所述可溶性TNFR细胞外结构域的C端的SEQ ID NO:8的凝血酶切割位点。

[0036] 12.如段落1至11中任一项所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白表达为二聚体融合蛋白。

[0037] 13.如段落1至12中任一项所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是依那西普或EYS606。

[0038] 14.如段落1至13中任一项所述的药物组合物,其中所述转基因包含SEQ ID NO:15-18的核苷酸序列。

[0039] 15.如段落1至14中任一项所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白具有

SEQ ID NO:10或12的氨基酸序列。

[0040] 16.如段落1至15中任一项所述的药物组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是高糖基化突变体,或者其中所述抗TNF α Fc融合蛋白的所述Fc多肽是糖基化的或无糖基化的。

[0041] 17.如段落1至16中任一项所述的药物组合物,其中所述Fc结构域是IgG1-Fc结构域。

[0042] 18.如段落1至17中任一项所述的药物组合物,其中所述人工基因组是自身互补的。

[0043] 19.如段落1至18中任一项所述的药物组合物,其中所述人工基因组是构建体CAG.依那西普(SEQ ID NO:15或16)或mU1a.Vh4i.依那西普.scAAV(SEQ ID NO:17或18)。

[0044] 20.一种包含腺相关病毒(AAV)载体的组合物,所述AAV载体具有:

[0045] a.病毒AAV衣壳,所述病毒AAV衣壳任选地与AAV血清型1(AAV1)、血清型2(AAV2)、血清型AAV2.7m8(AAV2.7m8)、血清型3(AAV3)、血清型3B(AAV3B)、血清型4(AAV4)、血清型5(AAV5)、血清型6(AAV6)、血清型7(AAV7)、血清型8(AAV8)、血清型rh8(AAVrh8)、血清型9(AAV9)、血清型9e(AAV9e)、血清型rh10(AAVrh10)、血清型rh20(AAVrh20)、血清型rh39(AAVrh39)、血清型hu.37(AAVhu.37)、血清型rh73(AAVrh73)、血清型rh74(AAVrh74)、血清型hu51(AAV.hu51)、血清型hu21(AAV.hu21)、血清型hu12(AAV.hu12)或血清型hu26(AAV.hu26)的氨基酸序列具有至少95%同一性。

[0046] b.包含侧接AAV反向末端重复序列(ITR)的表达盒的人工基因组,其中所述表达盒包含编码抗TNF- α Fc融合蛋白的转基因,所述TNF- α Fc融合蛋白包含人可溶性TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)细胞外结构域,所述细胞外结构域通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接,所述转基因可操作地连接至促进所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列;

[0047] 其中所述转基因编码在所述抗TNF α Fc融合蛋白的N端的指导所述抗TNF α Fc融合物在眼组织细胞中的分泌和翻译后修饰的信号序列。

[0048] 21.如段落20所述的组合物,其中所述转基因还包含在所述可溶性人TNFR细胞外结构域的C端的SEQ ID NO:8的凝血酶切割位点。

[0049] 22.如段落20或21中任一项所述的组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白具有SEQ ID NO:10或12的氨基酸序列。

[0050] 23.如段落20至22所述的组合物,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是依那西普或EYS606。

[0051] 24.如段落20至23所述的组合物,其中所述眼组织细胞是角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、视网膜细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

[0052] 25.如段落20至24所述的组合物,其中所述转基因包含SEQ ID NO:13或14的核苷酸序列。

[0053] 26.如段落20至25所述的组合物,其中所述信号序列是MYRMQLLLLLIALSLALVTNS(SEQ ID NO:62)或者来自表2、表3或表4的信号序列。

[0054] 27.如段落20至26中任一项所述的组合物,其中所述人工基因组是自身互补的。

[0055] 28.如段落20至27中任一项所述的组合物,其中所述人工基因组是构建体CAG.依

那西普 (SEQ ID NO:15) 或 mU1a.Vh4i.依那西普.scAAV (SEQ ID NO:17)。

[0056] 治疗方法

[0057] 29. 一种治疗有需要的人受试者的非感染性葡萄膜炎的方法, 所述方法包括向所述受试者视网膜下、玻璃体内、鼻内、前房内、脉络膜上腔或全身施用治疗有效量的包含重组 AAV 的组合物, 所述重组 AAV 包含编码抗 TNF α Fc 融合蛋白的转基因, 所述转基因可操作地连接至控制所述转基因在眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列。

[0058] 30. 一种治疗有需要的人受试者的非感染性葡萄膜炎的方法, 所述方法包括: 向所述受试者视网膜下、玻璃体内、鼻内、前房内、脉络膜上腔或全身施用治疗有效量的重组核苷酸表达载体, 所述重组核苷酸表达载体包含编码抗 TNF α Fc 融合蛋白的转基因, 所述转基因可操作地连接至控制所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列, 使得形成释放人翻译后修饰 (HuPTM) 形式的抗 TNF α Fc 融合蛋白的贮库。

[0059] 31. 如段落 29 和 30 所述的方法, 其中所述眼组织细胞是角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、视网膜细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

[0060] 32. 如段落 29 至 31 所述的方法, 其中所述抗 TNF α Fc 融合蛋白包含与 IgG Fc 结构域共价连接的人可溶性 TNF α 受体 I 型 (TNFR1) 或 II 型 (TNFR2) 细胞外结构域。

[0061] 33. 如段落 29 至 32 所述的方法, 其中所述转基因是依那西普或 EYS606。

[0062] 34. 如段落 29 至 33 所述的方法, 其中所述转基因具有 SEQ ID NO:15-17 的核苷酸序列。

[0063] 35. 如段落 29 至 34 所述的方法, 其中所述重组核苷酸表达载体包装在具有病毒衣壳的 rAAV 中, 其中所述病毒衣壳与 AAV 血清型 1 (AAV1)、血清型 2 (AAV2)、血清型 AAV2.7m8、血清型 3 (AAV3)、血清型 3B (AAV3B)、血清型 4 (AAV4)、血清型 5 (AAV5)、血清型 6 (AAV6)、血清型 7 (AAV7)、血清型 8 (AAV8)、血清型 rh8 (AAVrh8)、血清型 9 (AAV9)、血清型 9e (AAV9e)、血清型 rh10 (AAVrh10)、血清型 rh20 (AAVrh20)、血清型 rh39 (AAVrh39)、血清型 hu.37 (AAVhu.37)、血清型 rh73 (AAVrh73) 或血清型 rh74 (AAVrh74)、血清型 hu51 (AAV.hu51)、血清型 hu21 (AAV.hu21)、血清型 hu12 (AAV.hu12) 或血清型 hu26 (AAV.hu26) 的氨基酸序列具有至少 95% 同一性。

[0064] 36. 如段落 29、31 至 35 中任一项所述的方法, 其中所述 AAV 衣壳是 AAV8、AAV2.7m8、AAV3B 或 AAVrh73。

[0065] 37. 如段落 29 至 36 中任一项所述的方法, 其中所述调控序列包括来自表 1 或表 1a 的调控序列。

[0066] 38. 如段落 37 所述的方法, 其中所述调控序列是人视紫红质激酶 (GRK1) 启动子 (SEQ ID NO:54 或 117)、小鼠视锥阻遏蛋白 (CAR) 启动子 (SEQ ID NO:114-116)、人红视蛋白 (Red0) 启动子 (SEQ ID NO:112)、CB 启动子 (SEQ ID NO:159)、CB 长启动子 (SEQ ID NO:160) 或 Best1/GRK 启动子 (SEQ ID NO:161)。

[0067] 39. 如段落 29 至 38 中任一项所述的方法, 其中所述转基因编码在所述抗 TNF α Fc 融合蛋白的 N 端的指导所述人眼组织细胞中的分泌和翻译后修饰的信号序列。

[0068] 40. 如段落 39 所述的方法, 其中所述信号序列是 MYRMQLLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO:62) 或者来自表 2、表 3 或表 4 的信号序列。

[0069] 41. 如段落 25 至 40 中任一项所述的方法, 其中所述转基因具有以下结构: 信号序

列-9人可溶性TNFR细胞外结构域(1型或2型)-铰链区-Fc结构域-PolyA。

[0070] 42.如段落41所述的方法,其中所述转基因还包含在所述人可溶性TNFR细胞外结构域的C端的具有SEQ ID NO:8的凝血酶切割位点。

[0071] 43.如段落29至42中任一项所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是高糖基化突变体,或者其中所述抗TNF α Fc融合蛋白的所述Fc结构域是糖基化的或无糖基化的。

[0072] 44.如段落29至43中任一项所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白含有 α 2,6-唾液酸化聚糖。

[0073] 45.如段落29至44中任一项所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白是糖基化的,但不含有可检测的NeuGc和/或 α -Gal。

[0074] 46.如段落29至45中任一项所述的方法,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白含有酪氨酸硫酸化。

[0075] 47.如段落29至46中任一项所述的方法,其中所述HuPTM形式的所述抗TNF α Fc融合蛋白的产生通过用所述重组核苷酸表达载体转导培养的人眼细胞并表达所述抗TNF α Fc融合蛋白来证实。

[0076] 48.如段落29或47中所述的方法,其中所述治疗有效量被确定为足以使最佳矫正视力(BCVA)提高 ≥ 2 个ETDRS行或增加logMAR、根据SUN分类降低前房和后房的炎性活性以及/或者降低玻璃体混浊的等级。

[0077] 49.如段落29至48中任一项所述的方法,其中所述rAAV是自身互补的。

[0078] 50.如段落29至49中任一项所述的方法,其中所述转基因在构建体CAG.依那西普(SEQ ID NO:15或16)或mU1a.Vh4i.依那西普.scAAV(SEQ ID NO:17或18)内。

[0079] 制造方法

[0080] 51.一种产生重组AAV的方法,所述方法包括:

[0081] (a)培养宿主细胞,所述宿主细胞含有:

[0082] (i)人工基因组,所述人工基因组包含侧接AAV ITR的顺式表达盒,其中所述顺式表达盒包含编码抗TNF α Fc融合蛋白的转基因,其中所述抗TNF α Fc融合蛋白包含人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,所述可溶性细胞外部分通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接,所述转基因可操作地连接至促进所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列;

[0083] (ii)缺少AAV ITR的反式表达盒,其中所述反式表达盒编码AAV rep和AAV衣壳蛋白,所述AAV rep和AAV衣壳蛋白可操作地连接至驱动所述AAV rep和AAV衣壳蛋白在培养的所述宿主细胞中表达并反式提供所述AAV rep和AAV衣壳蛋白的表达控制元件,其中所述衣壳具有眼组织嗜性;

[0084] (iii)足够的腺病毒辅助功能,以允许所述AAV衣壳蛋白复制和包装所述人工基因组;以及

[0085] (b)从所述细胞培养物中回收包裹所述人工基因组的重组AAV。

[0086] 52.如段落51所述的方法,其中所述眼组织细胞是角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、视网膜细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

[0087] 53.如段落51或52所述的方法,其中所述转基因编码依那西普或EYS606,其中所述AAV衣壳蛋白是根据实施方案1所述的rAAV衣壳蛋白,其中所述衣壳蛋白来自AAV血清型1

(AAV1)、血清型2 (AAV2)、血清型2.7m8、血清型3 (AAV3)、血清型3B (AAV3B)、血清型4 (AAV4)、血清型5 (AAV5)、血清型6 (AAV6)、血清型7 (AAV7)、血清型8 (AAV8)、血清型rh8 (AAVrh8)、血清型9 (AAV9)、血清型9e (AAV9e)、血清型rh10 (AAVrh10)、血清型rh20 (AAVrh20)、血清型rh39 (AAVrh39)、血清型hu.37 (AAVhu.37)、血清型rh73 (AAVrh73)、血清型rh74 (AAVrh74)、血清型hu51 (AAV.hu51)、血清型hu21 (AAV.hu21)、血清型hu12 (AAV.hu12) 或血清型hu26 (AAV.hu26) 中的至少一种AAV血清型。

[0088] 54. 一种宿主细胞, 所述宿主细胞含有:

[0089] a. 人工基因组, 所述人工基因组包含侧接AAV ITR的顺式表达盒, 其中所述顺式表达盒包含编码抗TNF α 融合蛋白的转基因, 其中所述抗TNF α Fc融合蛋白包含人TNF α 受体I型 (TNFR1) 或II型 (TNFR2) 的可溶性细胞外部分, 所述可溶性细胞外部分通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接, 所述转基因可操作地连接至促进所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列;

[0090] b. 缺少AAV ITR的反式表达盒, 其中所述反式表达盒编码AAV rep和AAV衣壳蛋白, 所述AAV rep和AAV衣壳蛋白可操作地连接至驱动所述AAV rep和AAV衣壳蛋白在培养的所述宿主细胞中表达并反式提供所述AAV rep和AAV衣壳蛋白的表达控制元件, 其中所述衣壳具有眼组织嗜性;

[0091] c. 足够的腺病毒辅助功能, 以允许所述AAV衣壳蛋白复制和包装所述人工基因组。

[0092] 55. 如段落54所述的宿主细胞, 其中所述转基因编码依那西普或EYS606。

[0093] 56. 如段落53或54所述的宿主细胞, 其中所述AAV衣壳蛋白是AAV血清型1 (AAV1)、血清型2 (AAV2)、血清型2.7m8 (AAV2.7m8)、血清型3 (AAV3)、血清型3B (AAV3B)、血清型4 (AAV4)、血清型5 (AAV5)、血清型6 (AAV6)、血清型7 (AAV7)、血清型8 (AAV8)、血清型rh8 (AAVrh8)、血清型9 (AAV9)、血清型9e (AAV9e)、血清型rh10 (AAVrh10)、血清型rh20 (AAVrh20)、血清型rh39 (AAVrh39)、血清型hu.37 (AAVhu.37)、血清型rh73 (AAVrh73)、血清型rh74 (AAVrh74)、血清型hu51 (AAV.hu51)、血清型hu21 (AAV.hu21)、血清型hu12 (AAV.hu12) 或血清型hu26 (AAV.hu26)。

4. 附图说明

[0094] 图1. 含有由表达元件控制且侧接AAV ITR的编码依那西普的表达盒的rAAV载体基因组构建体的示意图。

[0095] 图2A和图2B. 抗TNF α Fc融合蛋白依那西普(A) 和EYS606(B) 的氨基酸序列。糖基化位点加粗或加下划线。谷氨酰胺糖基化位点、天冬酰胺(N) 糖基化位点、规范和非共有天冬酰胺(N) 糖基化位点以及酪氨酸-O-硫酸化位点(斜体) 如文字说明中所示。Fc结构域(CH2和CH3结构域) 以灰色突出显示。铰链区以斜体指示。凝血酶切割位点加下划线。

[0096] 图3. 具有眼组织嗜性的各种衣壳的群集多序列比对。可以通过从其他比对的AAV衣壳的相应位置“招募”氨基酸残基来对AAV8衣壳进行氨基酸取代(在底部行中以粗体显示)。以灰色显示的序列=高变区。AAV衣壳的氨基酸序列被指定如图3所示的序列ID号。

[0097] 图4. IgG1 (SEQ ID NO:47)、IgG2 (SEQ ID NO:48) 和IgG4 (SEQ ID NO:49) 的恒定重链区(CH2和CH3) 的群集多序列比对。铰链区(从重链的残基219至残基230) 以斜体显示。氨基酸的编号是EU格式。

[0098] 图5A和B.A.载体化阿达木单抗IgG和Fab与TNF α 跨模型物种(小鼠、大鼠和人)的结合。阴性对照包括来自未转染细胞的上清液。载体化拉那利尤单抗(1anadelumab)(pAAV.CAG.拉那利尤单抗.IgG)用作非特异性抗体对照。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。B.载体化阿达木单抗IgG和依那西普与TNF α 跨模型物种(小鼠、大鼠和人)的结合。阴性对照包括来自未转染细胞的上清液。载体化拉那利尤单抗(1anadelumab)(pAAV.CAG.拉那利尤单抗.IgG)用作非特异性抗体对照。数据表示为平均值 $\pm$ SEM。

5. 具体实施方式

[0099] 描述了用于将与TNF α 结合的完全人翻译后修饰的(HuPTM)治疗性抗TNF α Fc融合蛋白全身递送至被诊断患有非感染性葡萄膜炎的人受试者的组合物和方法。递送可有利地经由基因疗法来完成,例如通过将编码治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的病毒载体或其他DNA表达构建体(或任一种的高糖基化衍生物)施用于被诊断患有非感染性葡萄膜炎的患者(人受试者),以在患者的组合或器官、特别是眼组织(诸如视网膜)中产生将HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白(例如,人糖基化转基因产物)持续供应至抗TNF α Fc融合蛋白发挥其治疗作用的部位的永久贮库。

[0100] 在某些实施方案中,由转基因编码的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白是但不限于结合TNF α 的TNFR:Fc融合蛋白,特别是依那西普或EYS606(分别参见图2A和图2B的TNFR-Fc融合蛋白依那西普和EYS606的氨基酸序列)。在实施方案中,当表达时,TNFR Fc融合蛋白是二聚体的。

[0101] 由转基因编码的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白可以包括但不限于与TNF α 结合的治疗性抗TNF α TNFR1:Fc融合物,包括但不限于EYS606。上述氨基酸序列在下表6中提供。TNFR1结构域具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列,Fc结构域具有SEQ ID NO:6(或7,无铰链)的氨基酸序列,并且EYS606蛋白具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列。由转基因编码的HuPTM抗TNF α TNFR1:Fc融合物可以包括但不限于被工程化以含有在Fc结构域上的另外的糖基化位点的二聚体融合蛋白。

[0102] 由转基因编码的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白可以包括但不限于与TNF α 结合的治疗性抗TNF α TNFR2:Fc融合物,包括但不限于依那西普。上述氨基酸序列在下表6中提供。TNFR2结构域具有SEQ ID NO:2的氨基酸序列,Fc结构域具有SEQ ID NO:3(SEQ ID NO 4,无铰链区)的氨基酸序列,依那西普具有SEQ ID NO:10(SEQ ID NO:11,包括前导序列)以及SEQ ID NO:13-18中的一个的转基因核酸序列)的氨基酸序列。由转基因编码的HuPTM抗TNF α TNFR2:Fc融合物可以包括但不限于被工程化以含有在Fc结构域上的另外的糖基化位点的二聚体融合蛋白。

[0103] 本文提供的组合物和方法将抗TNF α Fc融合蛋白、特别是依那西普和EYS606以在眼组织中(例如,在玻璃状液或水状液中)或在血清中在治疗上或在预防上有效治疗或改善非感染性葡萄膜炎或可用抗TNF α Fc融合蛋白治疗的其他适应症的的症状的水平从病毒基因组的贮库全身性递送至例如受试者的眼睛或肝脏/肌肉中。本文鉴定了用于将编码治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的转基因递送至人受试者的细胞(在实施方案中包括一种或多种眼组织细胞)的病毒载体,以及可操作地连接至编码抗TNF α Fc融合蛋白的核酸序列的调控元件,所述调控元件促进抗体在细胞中(在实施方案中在眼组织细胞中)表达。此类调控元件

(包括眼组织特异性调控元件)在本文的表1和表1a中提供。因此,此类病毒载体可以适当的剂量递送至人受试者,使得在施用后至少20、30、40、50或60天,抗TNF α Fc融合蛋白以治疗有效水平存在于所述人受试者的血浆或眼组织中。在实施方案中,确定抗TNF α Fc融合蛋白的治疗有效水平(在人试验、动物模型(诸如本文所述的那些等)中)以使最佳矫正视力(BCVA)提高 ≥ 2 个ETDRS行或增加logMAR、根据SUN分类降低前房和后房的炎性活性以及/或者降低玻璃体混浊的等级。

[0104] 用于递送转基因的重组载体包括非复制型重组腺相关病毒载体(“rAAV”)。出于多种原因,rAAV是特别有吸引力的载体-它们可以转导非复制型细胞,因此可以用于将转基因递送至细胞分裂水平较低的组织,诸如视网膜;它们可以被修饰以优先靶向选择的特定器官;并且有数百种衣壳血清型可供选择以获得所需的组织特异性,和/或避免被预先存在的患者针对一些AAV的抗体中和。此类rAAV包括但不限于基于AAV的载体,所述基于AAV的载体包含来自AAV1、AAV2、AAV2.7m8、AAV3、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAVrh8、AAV9、AAV9e、AAVrh10、AAVrh20、AAVrh39、AAVhu.37、AAVrh73、AAVrh74、AAV.hu51、AAV.hu21、AAV.hu12或AAV.hu26中的一种或多种的衣壳组分。在某些实施方案中,本文提供的基于AAV的载体包含来自AAV2.7m8、AAV8、AAV9、AAV10或AAVrh10血清型中的一种或多种的衣壳。

[0105] 然而,可使用其他病毒载体(包括但不限于慢病毒载体、痘苗病毒载体)或非病毒表达载体(称为“裸DNA”构建体)。转基因的表达可以由组成型或组织特异性表达控制元件控制。

[0106] 设计用于治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的基因疗法构建体,使得共价连接的TNFR和Fc部分表达为二聚体融合蛋白。例如,TNFR:Fc融合物可包括连接至重链之间的二硫键形成的铰链区(例如,SEQ ID NO:5或9)的全部或一部分。优选地,TNFR1:Fc是EYS606的生物改良物或生物类似物,或更优选地,TNFR:Fc是EYS606。优选地,TNFR2:Fc是依那西普的生物改良物或生物类似物,或更优选地,TNFR:Fc是依那西普。

[0107] 在某些实施方案中,本文公开的核酸(例如,多核苷酸)和核酸序列可被密码子优化,例如经由本领域技术人员已知的任何密码子优化技术(参见例如Quax等人,2015,Mol Cell 59:149-161的综述),并且还可被优化以减少CpG二聚体。可被密码子优化的治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的核酸序列在表7中公开。抗TNF α Fc融合蛋白需要N端前导序列以确保适当的翻译后加工和分泌。本文公开了用于在人细胞中表达治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的有用前导序列。示例性重组表达构建体在图1中示出。

[0108] 产生HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白应产生用于经由基因疗法来完成的疾病治疗的“生物改良物”分子,例如通过将编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白(诸如依那西普或EYS606)的病毒载体或其他DNA表达构建体施用于被诊断患有该抗TNF α Fc融合蛋白的疾病适应症的患者(人受试者),以在受试者体内产生持续供应由受试者的转导细胞产生的人糖基化的硫酸化转基因产物的永久贮库。HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的cDNA构建体应包括确保转导的人细胞进行适当的共翻译和翻译后加工(糖基化和蛋白质硫酸化)的信号肽。

[0109] 适合施用于人受试者的药物组合物包含重组载体在配制缓冲液中的悬浮液,所述配制缓冲液包含生理学上相容的水性缓冲液、表面活性剂和任选的赋形剂。这种配制缓冲液可以包含多糖、表面活性剂、聚合物或油中的一种或多种。

[0110] 作为基因疗法的替代或附加治疗,全长HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白可以通过重组

DNA技术在人细胞系中产生,并且可以将糖蛋白施用于患者。可以用于这种重组糖蛋白产生的人细胞系包括但不限于人胚肾293细胞(HEK293)、纤维肉瘤HT-1080、HKB-11、CAP、HuH-7和视网膜细胞系、PER.C6或RPE等(例如参见Dumont等人,2015,Crit.Rev.Biotechnol.36(6):1110-1122,该文献针对可以用于重组产生HuPTM生物制品的人细胞系的综述以其全文通过引用并入)。为了确保完全糖基化、特别是唾液酸化和酪氨酸硫酸化,可以通过工程化宿主细胞以共表达 α -2,6-唾液酸转移酶(或 α -2,3-和 α -2,6-唾液酸转移酶两者)和/或负责人细胞中酪氨酸-O-硫酸化的TPST-1和TPST-2酶来增强用于生产的细胞系。

[0111] 在基因疗法或蛋白疗法方法中产生的每个分子都是完全糖基化和硫酸化的并不是必需的。而是,产生的糖蛋白群体应具有足够的糖基化(包括2,6-唾液酸化)和硫酸化以证明功效。本发明的基因疗法治疗的目的是减缓或阻止疾病的进展。

[0112] 本发明的方法涵盖涉及将HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白递送至患者并伴随施用其他可用治疗的联合疗法。附加治疗可在基因疗法治疗之前、与其同时或之后施用。此类附加治疗可以包括但不限于与治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的共同疗法。

[0113] 还提供了制造病毒载体、特别是基于AAV的病毒载体的方法。在具体的实施方案中,提供了产生重组AAV的方法,所述方法包括培养含有人工基因组的宿主,所述人工基因组包含:侧接AAV ITR的顺式表达盒,其中所述顺式表达盒包含编码治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的转基因,所述转基因可操作地连接至将控制所述转基因在人细胞中表达的表达控制元件;缺少AAV ITR的反式表达盒,其中所述反式表达盒编码AAV rep和衣壳蛋白,所述AAV rep和衣壳蛋白可操作地连接至驱动所述AAV rep和衣壳蛋白在培养的所述宿主细胞中表达并反式提供所述rep和cap蛋白的表达控制元件;足够的腺病毒辅助功能,以允许所述AAV衣壳蛋白复制和包装所述人工基因组;以及从所述细胞培养物中回收包裹所述人工基因组的重组AAV。

[0114] 5.1定义

[0115] 短语“抗TNF α Fc融合蛋白”意指包含TNF α 受体(包括TNF- α 受体p55或p75)的可溶性细胞外结构域或部分的多肽,该可溶性细胞外结构域或部分例如通过肽键与免疫球蛋白、特别是IgG的Fc结构域共价连接。

[0116] 术语“调控元件”或“核酸调控元件”是控制相邻基因的转录的非编码核酸序列。顺式调控元件通常通过与转录因子结合来调节基因转录。这包括包含多于一个如本文所述的增强子或启动子元件的“复合核酸调控元件”。

[0117] 术语“表达盒”或“核酸表达盒”是指包括一个或多个转录控制元件的核酸分子,所述转录控制元件包括但不限于启动子、增强子和/或调控元件、内含子和聚腺苷酸化序列。增强子和启动子通常在一种或多种所需细胞类型、组织或器官中起指导(反式)基因表达的作用。

[0118] 术语“可操作地连接”和“可操作地连接至”是指核酸序列被连接并且通常是连续的或基本上连续的,并且在需要时接合两个蛋白质编码区、是连续的并且在阅读框中。然而,由于增强子通常在与启动子相隔几千碱基时发挥作用,并且内含子序列可能具有可变长度,因此一些多核苷酸元件可被可操作地连接并且仍然具有功能,同时不与下游启动子和转基因直接邻接。

[0119] 术语“AAV”或“腺相关病毒”是指细小病毒科(Parvoviridae)病毒属中的依赖性细

小病毒(Dependoparvovirus)。AAV可以是源自天然存在的“野生型”病毒的AAV、源自包装到包含由天然存在的cap基因编码的衣壳蛋白的衣壳中的rAAV基因组和/或源自包装到包含由非天然存在的衣壳cap基因编码的衣壳蛋白的衣壳中的rAAV基因组的AAV。后者的实例包括具有衣壳蛋白的rAAV,所述衣壳蛋白包含肽插入天然存在的衣壳的氨基酸序列中或修饰天然存在的衣壳的氨基酸序列。

[0120] 术语“rAAV”是指“重组AAV”。在一些实施方案中,重组AAV具有其中部分或全部rep和cap基因已被异源序列替代的AAV基因组。

[0121] 术语“rep-cap辅助质粒”是指提供病毒rep和cap基因功能并帮助由缺乏功能性rep和/或cap基因序列的rAAV基因组产生AAV的质粒。

[0122] 术语“cap基因”是指编码形成或帮助形成病毒衣壳的衣壳蛋白的核酸序列。对于AAV,衣壳蛋白可以是VP1、VP2或VP3。

[0123] 术语“rep基因”指编码病毒的复制和产生所需的非结构蛋白的核酸序列。

[0124] 术语“核酸”和“核苷酸序列”包括DNA分子(例如,cDNA或基因组DNA)、RNA分子(例如,mRNA)、DNA和RNA分子的组合或杂合DNA/RNA分子以及DNA或RNA分子的类似物。此类类似物可使用例如核苷酸类似物产生,所述核苷酸类似物包括但不限于肌苷或三苯甲基化碱基。此类类似物还可包含含有经修饰的主链的DNA或RNA分子,所述经修饰的主链赋予分子有益的属性,如例如核酸酶抗性或增加的穿过细胞膜的能力。核酸或核苷酸序列可以是单链的、双链的,可含有单链和双链部分,并且可含有三链部分,但优选地是双链DNA。

[0125] 术语“受试者”、“宿主”和“患者”可互换使用。如本文所用,受试者优选地是哺乳动物,诸如非灵长类动物(例如,牛、猪、马、猫、狗、大鼠等)或灵长类动物(例如,猴和人),最优选人。

[0126] 术语“治疗剂”或“生物治疗剂”是指可用于治疗、控制或改善与疾病或病症相关的症状的任何剂,其中所述疾病或病症与转基因将提供的功能相关。如本文所用,“治疗有效量”是指当施用于患有目标疾病或病症的受试者时,在所述疾病或病症的治疗或控制中提供至少一种治疗益处的剂的量(例如,由转基因表达的产物的量)。此外,关于本发明的剂的治疗有效量是指单独或与其它疗法组合时在疾病或病症的治疗或控制中提供至少一种治疗益处的剂的量。

[0127] 短语“肝脏特异性”或“肝脏定向”是指如下核酸元件:由于此类元件与肝细胞的细胞内环境的相互作用而已经调整它们在肝脏(肝)细胞或组织中的活性。在将基因疗法递送至肝脏组织的情况下,肝脏充当身体的生物反应器或“贮库”,并且在肝脏中增强表达的基因盒将产生分泌到循环中的生物治疗剂(翻译的蛋白质)。因此,生物治疗剂通过肝脏表达的方式全身递送至受试者。不受任何一种理论的束缚,肝脏产生生物治疗剂(诸如由递送的转基因产生)可以提供对该剂的免疫耐受性,使得产生该蛋白质的受试者的内源性T细胞会将该蛋白质识别为自身蛋白质,而不诱导先天免疫反应。

[0128] 5.2构建体

[0129] 本文提供了编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的病毒载体或其他DNA表达构建体。本文提供的病毒载体和其他DNA表达构建体包括用于将转基因递送至靶细胞的任何合适的方法。转基因的递送手段包括病毒载体、脂质体、其他含脂质复合物、其他大分子复合物、合成的修饰mRNA、未修饰mRNA、小分子、非生物活性分子(例如,金颗粒)、聚合分子(例如,树状

物)、裸DNA、质粒、噬菌体、转座子、粘粒或附加体。在一些实施方案中,载体是靶向载体,例如靶向眼组织细胞的载体或对眼组织细胞具有嗜性的载体。

[0130] 在一些方面,本公开提供了用于使用的核酸,其中所述核酸包含编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的核酸序列,作为本文所述的转基因,所述转基因可操作地连接至被选择用于在靶向表达所述转基因的组织中表达的启动子,例如但不限于泛在启动子(诸如CB7/CAG启动子(SEQ ID NO:50)和相关的上游调控序列、巨细胞病毒(CMV)启动子、EF-1 α 启动子(SEQ ID NO:53)、mU1a(SEQ ID NO:52)、UB6启动子、鸡 β -肌动蛋白(CBA)启动子)和眼组织特异性启动子(诸如人视紫红质激酶(GRK1)启动子(SEQ ID NO:54或117)、小鼠视锥阻遏蛋白(CAR)启动子(SEQ ID NO:114-116)、人红色视蛋白(Red0)启动子(SEQ ID NO:112)、CB启动子(SEQ ID NO:159)、CB长启动子(SEQ ID NO:160)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161))。关于有用启动子的列表参见表1和表1a。

[0131] 在某些实施方案中,本文提供了包含一种或多种核酸(例如,多核苷酸)的重组载体。核酸可包括DNA、RNA或DNA和RNA的组合。在某些实施方案中,DNA包含选自由启动子序列、感兴趣的基因序列(转基因,例如编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的核苷酸序列)、非翻译区和终止序列组成的组的序列中的一种或多种。在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含可操作地连接至感兴趣的基因的启动子。

[0132] 在某些实施方案中,本文公开的核酸(例如,多核苷酸)和核酸序列可被密码子优化,例如经由本领域技术人员已知的任何密码子优化技术(参见例如Quax等人,2015,Mol Cell 59:149-161的综述)。用于在人细胞中表达抗TNF α 融合蛋白的核苷酸序列本文在表7中提供。

[0133] 在一个具体的实施方案中,本文所述的构建体包含以下组分:(1)侧接表达盒的AAV2反向末端重复序列;(2)一个或多个控制元件,b)任选地,鸡 β -肌动蛋白或其他内含子,以及c)兔 β -珠蛋白polyA信号;以及(3)编码TNFR2的可溶性细胞外结构域的核酸序列,所述可溶性细胞外结构域与人IgG1 Fc结构域的N端连接,其中所述Fc结构域从N端到C端包含:铰链区-CH2结构域-CH3结构域(依那西普)。示例性构建体在图1和图2A中示出。

[0134] 在一个具体的实施方案中,本文所述的构建体包含以下组分:(1)侧接表达盒的AAV2反向末端重复序列;(2)一个或多个控制元件,b)任选地,鸡 β -肌动蛋白或其他内含子,以及c)兔 β -珠蛋白polyA信号;以及(3)编码TNFR1的可溶性细胞外结构域的核酸序列,所述可溶性细胞外结构域经由凝血酶切割位点与人IgG1 Fc结构域的N端连接,其中所述Fc结构域从N端到C端包含:铰链区-CH2结构域-CH3结构域(EYS060)。示例性构建体在图2B中示出。

[0135] 5.2.1mRNA载体

[0136] 在某些实施方案中,作为DNA载体的替代,本文提供的载体是编码感兴趣的基因(例如转基因,例如HuPTM非单克隆抗体生物制品)的经修饰的mRNA。用于将转基因递送至视网膜色素上皮细胞的经修饰和未修饰的mRNA的合成在例如Hansson等人,J.Biol.Chem., 2015,290(9):5661-5672中教导,该文献以引用的方式整体并入本文。在某些实施方案中,本文提供了编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的经修饰的mRNA。

[0137] 5.2.2病毒载体

[0138] 病毒载体包括腺病毒、腺相关病毒(AAV,例如AAV2.7m8、AAV3、AAV8、AAV9、AAVrh10、AAV2.7m8和其他血清型)、慢病毒、辅助依赖性腺病毒、单纯疱疹病毒、痘病毒、日

本血凝素病毒 (HVJ)、甲病毒、痘苗病毒和逆转录病毒载体。逆转录病毒载体包括鼠白血病病毒 (MLV) 和基于人免疫缺陷病毒 (HIV) 的载体。甲病毒载体包括塞姆利基森林病毒 (SFV) 和辛德毕斯病毒 (SIN)。在某些实施方案中,本文提供的病毒载体是重组病毒载体。在某些实施方案中,改变本文提供的病毒载体,使得它们在人体中是复制缺陷型的。在某些实施方案中,病毒载体是杂合载体,例如置于“无助”腺病毒载体中的AAV载体。在某些实施方案中,本文提供了包含来自第一病毒的病毒衣壳和来自第二病毒的病毒包膜蛋白的病毒载体。在具体的实施方案中,第二病毒是水泡性口炎病毒 (VSV)。在更具体的实施方案中,包膜蛋白是VSV-G蛋白。

[0139] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体是基于HIV的病毒载体。在某些实施方案中,本文提供的基于HIV的载体包含至少两种多核苷酸,其中gag和pol基因来自HIV基因组,而env基因来自另一种病毒。

[0140] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体是基于单纯疱疹病毒的病毒载体。在某些实施方案中,修饰本文提供的基于单纯疱疹病毒的载体,使得它们不包含一个或多个即刻早期 (IE) 基因,使它们无细胞毒性。

[0141] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体是基于MLV的病毒载体。在某些实施方案中,本文提供的基于MLV的载体包含至多8kb的异源DNA代替病毒基因。

[0142] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体是基于慢病毒的病毒载体。在某些实施方案中,本文提供的慢病毒载体源自人慢病毒。在某些实施方案中,本文提供的慢病毒载体源自非人慢病毒。在某些实施方案中,本文提供的慢病毒载体被包装到慢病毒衣壳中。在某些实施方案中,本文提供的慢病毒载体包含以下元件中的一个或多个:长末端重复序列、引物结合位点、多嘌呤区、att位点和衣壳化位点。

[0143] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体是基于甲病毒的病毒载体。在某些实施方案中,本文提供的甲病毒载体是重组的复制缺陷型甲病毒。在某些实施方案中,本文提供的甲病毒载体中的甲病毒复制子通过在其病毒粒子表面展示功能性异源配体而靶向特定细胞类型。

[0144] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体是基于AAV的病毒载体。在某些实施方案中,本文提供的基于AAV的载体不编码AAV rep基因 (复制所需) 和/或AAV cap基因 (合成衣壳蛋白所需) (rep和cap蛋白可由包装细胞反式提供)。已鉴定了多种AAV血清型。在某些实施方案中,本文提供的基于AAV的载体包含来自一种或多种AAV血清型的组分。在优选的实施方案中,本文提供的基于AAV的载体包含来自对眼组织、肝脏和/或肌肉具有嗜性的AAV的一种或多种血清型的组分。在整个说明书中,AAV“血清型”是指具有免疫学上不同的衣壳、天然存在的衣壳或工程化衣壳的AAV。在某些实施方案中,本文提供的基于AAV的载体包含来自AAV1、AAV2、AAV2.7m8、AAV3、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAVrh8、AAV9、AAV9e、AAVrh10、AAVrh20、AAVrh39、AAVhu.37、AAVrh73、AAVrh74、AAV.hu51、AAV.hu21、AAV.hu12或AAV.hu26中的一种或多种的衣壳组分。在某些实施方案中,本文提供的基于AAV的载体是AAV2.7m8、AAV8、AAV3B、AAV9、AAV10、AAVrh73或AAVrh10血清型中的一种或多种或者包含来自这些血清型中的一种或多种的组分。提供了病毒载体,其中衣壳蛋白是AAV8衣壳蛋白 (SEQ ID NO:32)、AAV3B衣壳蛋白 (SEQ ID NO:26) 或AAVrh73衣壳蛋白 (SEQ ID NO:38) 的变体,并且衣壳蛋白与AAV8衣壳蛋白 (SEQ ID NO:32)、AAV3B衣壳蛋白 (SEQ ID NO:26) 或

AAVrh73衣壳蛋白 (SEQ ID NO:38) 的氨基酸序列例如具有至少95%、96%、97%、98%、99%或99.9%同一性,同时保留天然衣壳的生物学功能。在某些实施方案中,编码的AAV衣壳具有SEQ ID NO:32的序列,该序列具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个氨基酸取代并保留AAV8、AAV3B或AAVrh73衣壳的生物学功能。图3提供了不同AAV血清型的衣壳蛋白的氨基酸序列与潜在氨基酸的比较比对,所述潜在氨基酸可基于标记为SUBS的行中的比较在比对序列中的某些位置被取代。因此,在具体的实施方案中,AAV载体包含AAV8、AAV3B或AAVrh73衣壳变体,所述衣壳变体具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个不存在于如图3的SUBS行中鉴定的天然AAV衣壳序列中的该位置的氨基酸取代。AAV8、AAV3B或AAVrh73衣壳的氨基酸序列在表3中提供。

[0145] 在一些实施方案中,基于AAV的载体包含来自一种或多种AAV的血清型的组分。在一些实施方案中,本文提供的基于AAV的载体包含来自以下中的一种或多种的衣壳组分: AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV14、AAV15、AAV16、AAV.rh8、AAV.rh10、AAV.rh20、AAV.rh39、AAV.Rh74、AAV.RHM4-1、AAV.hu37、AAV.Anc80、AAV.Anc80L65、AAV.7m8、AAV.PHP.B、AAV.PHP.eB、AAV2.5、AAV2tYF、AAV3B、AAV.LK03、AAV.HSC1、AAV.HSC2、AAV.HSC3、AAV.HSC4、AAV.HSC5、AAV.HSC6、AAV.HSC7、AAV.HSC8、AAV.HSC9、AAV.HSC10、AAV.HSC11、AAV.HSC12、AAV.HSC13、AAV.HSC14、AAV.HSC15或AAV.HSC16或其他rAAV颗粒、或者它们中的两种或更多种的组合。在一些实施方案中,本文提供的基于AAV的载体包含来自以下中的一种或多种的衣壳组分: AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV14、AAV15、AAV16、AAV.rh8、AAV.rh10、AAV.rh20、AAV.rh39、AAV.Rh74、AAV.RHM4-1、AAV.hu37、AAV.Anc80、AAV.Anc80L65、AAV.7m8、AAV.PHP.B、AAV.PHP.eB、AAV2.5、AAV2tYF、AAV3B、AAV.LK03、AAV.HSC1、AAV.HSC2、AAV.HSC3、AAV.HSC4、AAV.HSC5、AAV.HSC6、AAV.HSC7、AAV.HSC8、AAV.HSC9、AAV.HSC10、AAV.HSC11、AAV.HSC12、AAV.HSC13、AAV.HSC14、AAV.HSC15或AAV.HSC16或其他rAAV颗粒、或者它们中的两种或更多种血清型的组合。在一些实施方案中,rAAV颗粒包含与选自以下的AAV衣壳血清型的例如VP1、VP2和/或VP3序列具有至少80%或更多同一性(例如,85%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%等,即,最多100%同一性)的衣壳蛋白: AAV1、AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAV14、AAV15、AAV16、AAV.rh8、AAV.rh10、AAV.rh20、AAV.rh39、AAV.Rh74、AAV.RHM4-1、AAV.hu37、AAV.Anc80、rAAV.Anc80L65、AAV.7m8、AAV.PHP.B、AAV.PHP.eB、AAV2.5、AAV2tYF、AAV3B、AAV.LK03、AAV.HSC1、AAV.HSC2、AAV.HSC3、AAV.HSC4、AAV.HSC5、AAV.HSC6、AAV.HSC7、AAV.HSC8、AAV.HSC9、AAV.HSC10、AAV.HSC11、AAV.HSC12、AAV.HSC13、AAV.HSC14、AAV.HSC15或AAV.HSC16或它们的衍生物、修饰物或假型。

[0146] 在具体的实施方案中,用于本文的组合物和方法中的重组AAV是Anc80或Anc80L65(参见例如Zinn等人,2015,Cell Rep.12(6):1056-1068,其以引用的方式整体并入)。在具体的实施方案中,用于本文的组合物和方法中的重组AAV是AAV.7m8(包括其变体)(参见例如US 9,193,956、US 9,458,517、US 9,587,282、US 2016/0376323和WO 2018/075798,其各自以引用的方式整体并入本文)。在具体的实施方案中,用于本文的组合物和方法中的AAV

是US 9,585,971中公开的任何AAV,诸如AAV-PHP.B。在具体的实施方案中,用于本文的组合物和方法中的AAV是AAV2/Rec2或AAV2/Rec3载体,该载体具有源自AAV8和血清型cy5、rh20或rh39的杂合衣壳序列(参见例如Issa等人,2013,PLoS One 8(4):e60361,其关于这些载体以引用的方式并入本文)。在具体的实施方案中,用于本文的组合物和方法中的AAV是在以下(其各自以引用的方式整体并入本文)中的任一项中公开的AAV:US 7,282,199、US 7,906,111、US 8,524,446、US 8,999,678、US 8,628,966、US 8,927,514、US 8,734,809、US 9,284,357、US 9,409,953、US 9,169,299、US 9,193,956、US 9,458,517、US 9,587,282、US 2015/0374803、US 2015/0126588、US 2017/0067908、US 2013/0224836、US 2016/0215024、US 2017/0051257、PCT/US2015/034799和PCT/EP2015/053335。在一些实施方案中,rAAV颗粒具有与以下专利和专利申请(其各自以引用的方式整体并入本文)中任一者中公开的AAV衣壳的VP1、VP2和/或VP3序列具有至少80%或更多同一性(例如,85%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、99.5%等,即,最多100%同一性)的衣壳蛋白:美国专利号7,282,199、7,906,111、8,524,446、8,999,678、8,628,966、8,927,514、8,734,809、US 9,284,357、9,409,953、9,169,299、9,193,956、9,458,517和9,587,282;美国专利申请公布号2015/0374803、2015/0126588、2017/0067908、2013/0224836、2016/0215024、2017/0051257;以及国际专利申请号PCT/US2015/034799、PCT/EP2015/053335。

[0147] 在一些实施方案中,rAAV颗粒包含美国专利号9,840,719和WO 2015/013313中公开的任何AAV衣壳,诸如AAV.Rh74和RHM4-1,所述专利各自以引用的方式整体并入本文。在一些实施方案中,rAAV颗粒包含WO 2014/172669中公开的任何AAV衣壳,诸如AAV rh.74,所述专利以引用的方式整体并入本文。在一些实施方案中,rAAV颗粒包含AAV2/5的衣壳,如Georgiadis等人,2016,Gene Therapy 23:857-862和Georgiadis等人,2018,Gene Therapy 25:450中所描述,所述文献各自以引用的方式整体并入。在一些实施方案中,rAAV颗粒包含WO 2017/070491中公开的任何AAV衣壳,诸如AAV2tYF,所述专利以引用的方式整体并入本文。在一些实施方案中,rAAV颗粒包含AAVLK03或AAV3B的衣壳,如Puzzo等人,2017,Sci.Transl.Med.29(9):418中所描述,其以引用的方式整体并入本文。在一些实施方案中,rAAV颗粒包含美国专利号8,628,966、US 8,927,514、US 9,923,120和WO 2016/049230号中公开的任何AAV衣壳,诸如HSC1、HSC2、HSC3、HSC4、HSC5、HSC6、HSC7、HSC8、HSC9、HSC10、HSC11、HSC12、HSC13、HSC14、HSC15或HSC16,所述专利各自以引用的方式整体并入。

[0148] 在一些实施方案中,rAAV颗粒具有以下文献中公开的衣壳蛋白:国际申请公布号WO 2003/052051(参见例如'051公布的SEQ ID NO:2)、WO 2005/033321(参见例如'321公布的SEQ ID NO:123和88)、WO 03/042397(参见例如'397公布的SEQ ID NO:2、81、85和97)、WO 2006/068888(参见例如'888公布的SEQ ID NO:1和3-6)、WO 2006/110689(参见例如'689公布的SEQ ID NO:5-38)、WO2009/104964(参见例如'964公布的SEQ ID NO:1-5、7、9、20、22、24和31)、WO 2010/127097(参见例如'097公布的SEQ ID NO:5-38)和WO 2015/191508(参见例如'508公布的SEQ ID NO:80-294)和美国申请公布号20150023924(参见例如'924公布的SEQ ID NO:1、5-10),所述文献各自的内容以引用的方式整体并入。在一些实施方案中,rAAV颗粒具有与以下文献中公开的AAV衣壳的VP1、VP2和/或VP3序列具有至少80%或更多同一性(例如,85%、85%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、

98%、99%、99.5%等,即,最多100%同一性)的衣壳蛋白:国际申请公布号WO 2003/052051(参见例如'051公布的SEQ ID NO:2)、WO 2005/033321(参见例如'321公布的SEQ ID NO:123和88)、WO 03/042397(参见例如'397公布的SEQ ID NO:2、81、85和97)、WO 2006/068888(参见例如'888公布的SEQ ID NO:1和3-6)、WO 2006/110689(参见例如'689公布的SEQ ID NO:5-38)、WO2009/104964(参见例如964公布的SEQ ID NO:1-5、7、9、20、22、24和31)、WO 2010/127097(参见例如'097公布的SEQ ID NO:5-38)和WO 2015/191508(参见例如'508公布的SEQ ID NO:80-294)和美国申请公布号20150023924(参见例如'924公布的SEQ ID NO:1、5-10)。

[0149] 在另外的实施方案中,rAAV颗粒包含假型化AAV衣壳。在一些实施方案中,假型化AAV衣壳是rAAV2/8或rAAV2/9假型化AAV衣壳。用于产生和使用假型化rAAV颗粒的方法是本领域已知的(参见例如Duan等人,J.Virol.,75:7662-7671(2001);Halbert等人,J.Virol.,74:1524-1532(2000);Zolotukhin等人,Methods 28:158-167(2002);以及Auricchio等人,Hum.Molec.Genet.10:3075-3081,(2001))。

[0150] 基于AAV2.7m8、基于AAV8、基于AAV9和基于AAVrh10的病毒载体用于本文所述的某些方法中。基于AAV的病毒载体的核苷酸序列以及制备重组AAV和AAV衣壳的方法在例如美国专利号9,193,956 B2、美国专利号7,282,199 B2、美国专利号7,790,449 B2、美国专利号8,318,480 B2、美国专利号8,962,332 B2和国际专利申请号PCT/EP2014/076466中教导,所述专利各自以引用的方式整体并入本文。在一个方面,本文提供了编码转基因(例如,HuPTM二聚体融合蛋白)的基于AAV(例如,AAV2.7m8、AAV8、AAV9或AAVrh10)的病毒载体。AAV衣壳(包括AAV2.7m8、AAV8、AAV9和AAVrh10)的氨基酸序列在图3中提供。

[0151] 在某些实施方案中,单链AAV(ssAAV)可用于上文。在某些实施方案中,可使用自身互补载体,例如scAAV(参见例如Wu,2007,Human Gene Therapy,18(2):171-82;McCarty等人,2001,Gene Therapy,第8卷,第16期,第1248-1254页;以及美国专利号6,596,535、7,125,717和7,456,683,其各自以引用的方式整体并入本文)。

[0152] 在某些实施方案中,用于本文所述的方法中的病毒载体是基于腺病毒的病毒载体。重组腺病毒载体可用于转移编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的转基因。重组腺病毒可以是具有E1缺失、具有或不具有E3缺失并且具有插入任一缺失区中的表达盒的第一代载体。重组腺病毒可以是含有E2和E4区的全部或部分缺失的第二代载体。辅助依赖性腺病毒仅保留腺病毒反向末端重复序列和包装信号(phi)。在有或没有填充序列的情况下,将转基因插入在包装信号与3' ITR之间,以保持基因组接近大约36kb的野生型大小。用于产生腺病毒载体的示例性方案可见于Alba等人,2005,“Gutless adenovirus: last generation adenovirus for gene therapy,”Gene Therapy 12:S 18-S27中,其以引用的方式整体并入本文。

[0153] 在某些实施方案中,用于本文所述的方法中的病毒载体是基于慢病毒的病毒载体。重组慢病毒载体可用于转移编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的转基因。使用四种质粒来制备构建体:含有Gag/pol序列的质粒、含有Rev序列的质粒、含有包膜蛋白的质粒(例如,VSV-G)以及具有包装元件和抗TNF α Fc融合蛋白的顺式质粒。

[0154] 对于慢病毒载体产生,将四种质粒共转染到细胞(例如,基于HEK293的细胞)中,其中聚乙烯亚胺或磷酸钙可以用作转染剂。然后在上清液中收获慢病毒(慢病毒需要从细胞

出芽才具有活性,因此不需要/不应进行细胞收获)。过滤上清液(0.45 μ m),然后添加氯化镁和全能核酸酶(benzonase)。进一步的下游过程可能差别很大,其中使用TFF和柱色谱法是最符合GMP的过程。其他在有/没有柱色谱法的情况下使用超速离心。用于产生慢病毒载体的示例性方案可见于Lesch等人,2011,“Production and purification of lentiviral vector generated in 293T suspension cells with baculoviral vectors,”Gene Therapy 18:531-538和Ausubel等人,2012,“Production of CGMP-Grade Lentiviral Vectors,”Bioprocess Int.10(2):32-43,这两篇文献都以引用的方式整体并入本文。

[0155] 在一个具体的实施方案中,用于本文所述的方法中的载体是编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的载体,使得在将该载体引入相关细胞后,该细胞表达HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的糖基化和/或酪氨酸硫酸化变体。

[0156] 5.2.3基因表达的启动子和修饰物

[0157] 在某些实施方案中,本文提供的载体包含调节基因递送或基因表达的组分(例如,“表达控制元件”)。在某些实施方案中,本文提供的载体包含调节基因表达的组分。在某些实施方案中,本文提供的载体包含影响与细胞结合或靶向细胞的组分。在某些实施方案中,本文提供的载体包含影响多核苷酸(例如,转基因)在摄取后在细胞内定位的组分。在某些实施方案中,本文提供的载体包含可以用作可检测或可选择标记的组分,例如用于检测或选择已摄取多核苷酸的细胞。

[0158] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含控制转基因的表达的一种或多种启动子。这些启动子(以及控制转录的其他调控元件,诸如增强子)可以是组成型的(促进泛在表达)或者可在眼组织中特异性或选择性表达。在某些实施方案中,启动子是组成型启动子。

[0159] 在某些实施方案中,启动子是CB7(也称为CAG启动子)(参见Dinculescu等人,2005,Hum Gene Ther 16:649-663,其以引用的方式整体并入本文)。在一些实施方案中,CAG(SEQ ID NO:51)或CB7启动子(SEQ ID NO:50)包括增强载体驱动的转基因表达的其他表达控制元件。在某些实施方案中,其他表达控制元件包含鸡 β -肌动蛋白内含子和/或兔 β -珠蛋白polyA信号(SEQ ID NO:55)。在某些实施方案中,启动子包含TATA盒。在某些实施方案中,启动子包含一个或多个元件。在某些实施方案中,一个或多个启动子元件可相对于彼此倒置或移动。在某些实施方案中,启动子的元件被定位成协同发挥作用。在某些实施方案中,启动子的元件被定位成独立发挥作用。在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含选自以下组成的组的一种或多种启动子:人CMV即刻早期基因启动子、SV40早期启动子、劳斯肉瘤病毒(RS)长末端重复序列和大鼠胰岛素启动子。在某些实施方案中,本文提供的载体包含选自以下组成的组的一个或多个长末端重复序列(LTR)启动子:AAV、MLV、MMTV、SV40、RSV、HIV-1和HIV-2 LTR。

[0160] 在某些实施方案中,本文提供的载体包含一种或多种组织特异性启动子(例如,视网膜特异性启动子)。在具体的实施方案中,本文提供的病毒载体包含眼组织细胞特异性启动子,诸如人视紫红质激酶(GRK1)启动子(SEQ ID NO:54或117)、小鼠视锥阻遏蛋白(CAR)启动子(SEQ ID NO:114-116)、人红色视蛋白(Red0)启动子(SEQ ID NO:112)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161)。

[0161] 提供了关于串联元件在表达盒中的排列嵌合的核酸调控元件。一般而言,调控元

件具有多种功能,如转录起始或调节的识别位点、与细胞特异性机制协调以驱动在信号转导后表达以及增强下游基因的表达。

[0162] 在某些实施方案中,启动子是诱导型启动子。在某些实施方案中,启动子是缺氧诱导型启动子。在某些实施方案中,启动子包含缺氧诱导因子(HIF)结合位点。在某些实施方案中,启动子包含HIF-1 α 结合位点。在某些实施方案中,启动子包含HIF-2 α 结合位点。在某些实施方案中,HIF结合位点包含RCGTG基序。关于HIF结合位点的位置和序列的细节,参见例如 **Schödel** 等人,Blood,2011,117(23):e207-e217,其以引用的方式整体并入本文。在某些实施方案中,启动子包含缺氧诱导转录因子而不是HIF转录因子的结合位点。在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含在缺氧中优先翻译的一个或多个IRES位点。关于缺氧诱导型基因表达和其中涉及的因子的教导,参见例如Kenneth和Rocha,Biochem J.,2008,414:19-29,其以引用的方式整体并入本文。在具体的实施方案中,缺氧诱导型启动子是人N-WASP启动子,参见例如Salvi,2017,Biochemistry and Biophysics Reports 9:13-21(针对N-WASP启动子的教导通过引用并入),或者是人Epo的缺氧诱导型启动子,参见例如Tsuchiya等人,1993,J.Biochem.113:395-400(针对Epo缺氧诱导型启动子的公开内容以引用的方式并入)。在其他实施方案中,启动子是药物诱导型启动子,例如通过施用雷帕霉素或其类似物诱导的启动子。参见例如PCT公布W094/18317、W0 96/20951、W0 96/41865、W0 99/10508、W0 99/10510、W0 99/36553和W0 99/41258以及US 7,067,526中雷帕霉素诱导型启动子的公开内容,这些文献针对药物诱导型启动子的公开内容以引用的方式整体据此并入。

[0163] 本文提供了含有某些泛在和组织特异性启动子的构建体。此类启动子包括合成和串联启动子。启动子的示例和核苷酸序列在下表1和表1a中提供。表1还包括可用于本文提供的表达盒的其他调控元件的核苷酸序列。

[0164] 表1. 启动子和其他调控元件序列

[0165]

名称/ SEQ ID NO.	序列
-------------------	----

[0166]

CAG/CB7 SEQ ID NO:50	gacattgattattgactagttattaatagtaataattacgggggtcattagttcatagcccata tatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggccgcctggctgaccgccaacga ccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttccatagtaacccaatagggaacttcc cattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaaactgccacttggcagtagatcaagtgt atcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccgcctggcatt atgccagtagatgacctatgggactttcctacttggcagtagatctacgtattagtcacg ctattaccatggcaggtgagccccacgttctgttacttccccatctccccccctc cccaccccccaattttgtatttattttttaattttttgtgcagcgatgggggaggggggg ggggggggggcgcgccaggcgggggcgggcgggggcgagggggcgggggcgggg cgaggcgagaggtgcggcgagccaatcagagcgcgctccgaaagtcttctt ttatggcgagggcgggcgggcgggcgggccctataaaaagcgaagcgcgcgggcg gggagtcgtgcgcgtgccttcgccccgtgccccgtccgcccgcctcgcgcg cccggccggctctgactgaccgcgttactccacaggtgagcgggcgggagggccc ttctcctccgggtgtaattagcgcttggttaattgacggcttgtttcttctgtggtgcgt gaaagccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggagcggtcgggggg tgcgtgcgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgtgcccggcg ctgtgagcgtgcggggcgggcgggggccttgcgtccgcagtggtgcgcgaggg gagcgcgccggggggcggtgccccgcgtgcggggggggctgcgaggggaacaa aggctgcgtgcggggtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggggtgtggcgcgctcg tcgggctgaacccccctgcacccccctcccgagtgctgagcacggccggcttc gggtgcggggctccgtacggggcggtggcgcggggctgcctgcggggcgggggg tggcggcaggtgggggtgcccggcgggggcggggcccctcgggcggggagggg tcgggggagggggcgggcgggccccggagcgccggcggtgctgagggcgggcg agccgcagccattgcctttatgtaatcgtgcgagaggcgagggacttcccttgc caaatctgtgcggagccgaaatctgggagggcgccgcgcacccccctagcgggcg ggggcgaaagcggtgcggcgccggcgaggaaggaatggcggggagggccttcgtg cgtcgccgcgcgccgtcccttctccctctccagcctcggggctgctcgcgggggga cggctgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttctggtgtgaccgg cggtctagagcctctgtaaccatgttcacgttcttcttcttctacagctcctgggcaa cgtgctggtattgtgctgtctcatcttggcaaag
CAG (CMV-鸡 B-肌动蛋白启 动子-嵌合内含 子) SEQ ID NO:51	gacattgattattgactagttattaatagtaataattacgggggtcattagttcatagcccata tatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggccgcctggctgaccgccaacga ccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttccatagtaacccaatagggaacttcc cattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaaactgccacttggcagtagatcaagtgt atcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccgcctggcatt atgccagtagatgacctatgggactttcctacttggcagtagatctacgtattagtcacg ctattaccatggcaggtgagccccacgttctgttacttccccatctccccccctc cccaccccccaattttgtatttattttttaattttttgtgcagcgatgggggaggggggg ggggggggggcgcgccaggcgggggcgggcgggggcgagggggcgggggcgggg cgaggcgagaggtgcggcgagccaatcagagcgcgctccgaaagtcttctt ttatggcgagggcgggcgggcgggcgggccctataaaaagcgaagcgcgcgggcg gggagtcgtgcgcgtgccttcgccccgtgccccgtccgcccgcctcgcgcg cccggccggctctgactgaccgcgttactccacaggtgagcgggcgggagggccc ttctcctccgggtgtaattagcgcttggttaattgacggcttgtttcttctgtggtgcgt gaaagccttgaggggctccgggagggccctttgtgcgggggagcggtcgggggg tgcgtgcgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgtgcccggcg ctgtgagcgtgcggggcgggcgggcgggggccttgcgtccgcagtggtgcgcgaggg gagcgcgccggggggcggtgccccgcgtgcgggggggggtgcgaggggaacaa aggctgcgtgcggggtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggggtgtggcgcgctcg tcgggctgaacccccctgcacccccctcccgagtgctgagcacggcccggttc

[0167]

	gggtgcggggctccgtacggggcggtggcgcggggctcgccgtgccgggcgggggg tggcggcaggtgggggtgccgggcggggcggggcccctcgggccggggagggc tcgggggaggggcgcggcgccccggagcgccggcggtctcgaggcgcgcg agccgcagccattgcctttatgtaatctgctgagagggcgagggacttccttgc caaatctgtgcggagccgaaatctgggagggcgccggcgacccccctagcgggcgc ggggcggaagcggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggggagggccttcgtg cgtcgccgcggcgccgtcccttctccctctccagcctcggggctgtccgcgggggga cggtgccttcgggggggacggggcagggcggggttcggcttcggcgtgtgaccgg cggctctagagcctctgctaaccatgttcacgttccttcttttctacag
mU1a SEQ ID NO:52	atggaggcgggtactatgtatgtagaattcaggagcaaactgggaaaagcaactgttc caaatattgtgattttacagtgtattttgaaaaactcttagcctaccaattcttaagt tttaaatgtgggagccagtagacatgaagttagagtgtttaatgaggttaaatatt accgtaactatgaaatgtacgcataatcatgtgttcaggctccgtggccacgcaactcat act
EF-1 α (核心) SEQ ID NO:53	gggcagagcgacatcgccacagtcctccgagaagtggggggaggggtcggaat tgaacgggtgcctagagaaggtggcgcggggtaactgggaaagtgtgtgtact ggctcgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcggctg aacgttcttttcgcaacgggttgcggccagaacacag
人 UbC SEQ ID NO:111	Gtctaacaaaaagccaaaaacggccagaatttagcggacaattactagtctaact gaaAattacatattgacccaaatgattacattcaaaagggtcctaaaaacttcacaaaa cacactCgccaaccccgagcgcatagtcaaaacggagcttcagctactaagaaga taggtacataaAaccgaccaaagaaactgacgcctcacttatccctccctcaccagag gtccggcgctgtcgaTtcaggagagcctaccctaggcccgaaccctgcgtctgcg acggagaaaagcctaccgcacaCctaccggcaggtggccccaccctgcattataagc caacagaacgggtgacgtcacgacacgaCgagggcgcgctcccaaaggtagcg gtgactgcccacggcaccgcataactcccggcccCgcaacagacgacaaaccg agttctccagtcagtgacaaacttcacgtcagggtccccagatGTgccccagccatc tcacccgaataagagctttcccgattagcgaaggcctcaagacctgggTcttgccg cccaccatgccccccacctgtttcaacgacctcacagccgcctcacaagcgtcttcC attcaagactcgggaacagccgcatcttctgctgctcccccaaccccggtcaggg caaccTtgctcgggaccagactacagccctggcggtctctccacacgcttcctgc caccgagcggccCggcgggccacgaaagccccggccagcccagcagcccgctactc accaagtacgatcacagcgaTccacaaagaaccgcgacccaatcccggctgc gacggaactagctgtgccacaccggcgCgtccttatataatcatcgcggtcaccgcc ccacggagatccctccgcagaatcgccgagaagggActacttttctcgctgttcgc tctctgaaagaaaaccagtgccttagagtcaccaagtcccgTctaaatgtccttct gtgatactggggttctaaggccgagcttatgagcagcggggcgctgtcctGagcgtc cgggagggaaggatcaggacgtcgtcgccttcgtctgacgtggcagcgtcgc gtgaggagggggcgccccgaggcgccaaaaccggcgcgaggggc
人红视蛋白 (RedO) (光感受器特异性) SEQ ID NO: 112	ggaggctgaggggtggggaaaggcatgggtgtttcatgaggacagagcttcgttc atgcaatgaaaagagtttgagagcggatgggtgtgactggactatacacttacacgggt agcgatggtacactttgtattatgtatatttaccacgatcttttaagtgtaaaaggcaat ggccaaatggttcctgtcctatagctgtagcagccatcggtgttagtgacaaagccct gagtaagatgacagcagccccataactcctaactcggtctcccgctggagtcattta ggagtagtcgattagagacaagtccaacatctaactctccaccctggccagggcccca gtggcagcgagggtgggagactccggcgagagcagagggcgctgacattggggc ccggcctggcttgggtccctctggcctttcccaggggcccttcttctggggcttcttg ggccgcaactgtcccgctcctctccccatccacccctcaccctcgttctcata tcttctctagtgtccctccactttcatccaccctctgcaagagtgtgggaccacaaatg agtttccactggcctggggacacacgtgccccacaggtgtgagtgttcttaggac

[0168]

	agtaatctgctttaggctaaaatgggacttgatcttctgttagccctaatacatcaattagcag agccggtgaaggtgcagaaacctaccgccttccaggcctcctccacctctgccacctc cactctccttctgggatgtgggggctggcacacgtgtggccaggggcattggtgggat tgcactgagctgggtcattagcgtaatcctggacaagggcagacagggcgagcggag ggccagctccggggctcaggcaaggctgggggcttccccagacacccactcctcc tctgctggacccccacttcatagggcacttcgtgttctcaaagggttccaaatagcatgg tgaccttgatgccagggaagcctcagagttgcttatctccctctagacagaagggga atctcgggtcaagaggagaggtcgcctgttcaaggccaccagccagctcatggcgg taatggacaaggctggccagccatccaccctcagaagggaacccgggtggggcaggt gatctcagaggaggtcacttctgggtctcacattcttgatccgggtccaggcctcggc cctaaatagtctccctgggcttcaagagaaccacatgagaaaggaggattcgggctct gagcagtttcaccacccacccccagctcgaatcctgacctgtgggtccacctgcc caaaggcggacgcaggacagtagaagggaacagagaacacataaacacagagagg gccacagcggctcccacgtcaccgccaccttctggcggggatgggtggggcgtct gagtttggttccagcaaatccctctgagccgcccttgcgggctcgcctcaggagcagg ggagcaagaggtgggaggaggaggtctaagtccaggcccaattaagagatcaggtg gtgtagggttgggagctttaaaggtgaagaggccgggctgatccacaggccagtat aaagcggcgtgacctcaggtgatgcgccaggggccggctgccgtcggggacagggc ttccatagcc
人视紫红质 (Rho) (光感受器特异 性) SEQ ID NO:113	Agatcttcccc a cctagccacc tggcaaaactg ctcttctct caaaggccca aacatggcct cccagactgc aacccccagg cagtcaggcc ctgtctccac aacctcacag ccaccttgga cggaatctgc ttcttccac atttgagtc tcctcagccc ctgagctcct ctgggcaggg ctgtttcttt ccatctttgt attcccaggg gcctgcaaat aaatgtttaa tgaacgaaca agagagtga ttccaattcc atgcaacaag gattgggctc ctgggcccta ggctatgtgt ctggcaccag aaacggaagc tgcaggttgc agcccctgcc ctcatggagc tcctcctgtc agaggagtgt ggggactgga tgactccaga ggtaacttgt gggggaacga acaggtaagg ggctgtgtga cgagatgaga gactgggaga ataaaccaga aagtctctag ctgtccagag gacatagcac agaggccat ggtccctatt tcaaaccag gccaccagac tgagctggga ccttgggaca gacaagtc gcagaagtta ggggaccttc tcctcccttt tcctggatgg atcctgagta ccttctcctc cctgacctca ggcttcctc tagtgtcacc ttggcccctc ttagaagcca attaggccct cagtttctgc agcgggatt aatatgatta tgaacacccc caatctcca gatgtgatt cagccaggag cttaggaggg ggaggtcact ttataagggt ctgggggggt cagaaccag agtc (外显子 1 从 5339 开始; 还可参见 Bennett,J., Sun,D.和 Kariko,K. Sequence analysis of the 5.34-kb 5' flanking region of the human rhodopsin-encoding gene. Gene 167 (1-2), 317-320 (1995))

[0169]

小鼠视锥阻遏蛋白启动子 (CAR) (光感受器特异性) SEQ ID NO:114	TGGCCCTGGCATTCCCCTATACTGGGACATAGAACCTTCACAGGACCAAGGG CCTCTCCTCCCATTGATGACTGACTAGGCCATCCTCTAGCTACATAGGTGGT GGAGCCTAGAGTCCCTCCTTGTGTACTCTTTGGTGGTGGTTACTCTGGGGGT ACTAGGTTAGTTCGTATTGTTGTTCCCTCCTAGGGGACTGCAAACCCCTTCAG CTCCTTGGGTCCCTTCTCTAGTTCCCTTCTTTGGGGACCCTGTGCTCAGTTCA ATGGATGGCCAATTTCCTTCTTAAATGCCCTAGCAGTAACGTGTTAGGTCTC AATCCCAAGACAAATGTCTGAGGTGCCTATTTAACAGATCAAAGCGGACCTG TCCTCAGGTTAACCAGTCACTCCCTGTACCTCAGTCCCTACCCATCACAAT TCTCCAGCCCATGAGCTTCGGGCTGTACTTCCCCAACGGGTTCTCCCATTTT GGGTACATGGCCTTTTTTTTTTACCTTTTGGTTCCCTTTGGCCTTTTGGCTT TTGGCTTCCAGGGCTTCTGGATCCCCCAACCCCTCCCATACACA TACACATGTGCACTCGTGCCTCAACCCAGCACAGGATAATGTTCAATTCTTG ACCTTTCCACATACATCTGGCTATGTTCTCTCTTATCTACAATAAATCTC CTCCACTATACTTAGGAGCAGTTATGTTCTTCTTCTTTCTTTTCTTTTTTTT TTTTTTTCATTTCAGTAACATCATCAGAATCCCTAGCTCTGGCCTACCTCCT CAGTAACAATCAGCTGATCCCTGGCCACTAATCTGTACTCACTAATCTGTTT TCCAAACTCTTGGCCCTGAGCTAATTATAGCAGTGCTTCATGCCACCCACC CCAACCTATCCTTGTCTCTGACTCCCACTAATCTACACATTCAGAGGATT GTGGATATAAGAGGCTGGGAGGCCAGCTTAGCAACCAGAGCTCGAGGCTGAT GCGAGCTTCATCTCTTCCCTC
小鼠视锥阻遏蛋白启动子 (CAR) (光感受器特异性) SEQ ID NO:115	TTTTTTTTTACCTTTTTTGGTTCCTTTGGCCTTTTGGCTTTTGGCTTCCAGG GCTTCTGGATCCCCCAACCCCTCCCATACACATACACATGTGCACTCGTG CACTCAACCCAGCACAGGATA ATGTTCAATCTTGACCTTTCCACATACATCTGGCTATGTTCTCTCTCTATC TACAATAAATCTCCTCCACTATACTTAGGAGCAGTTATGTTCTTCTTCTTTC TTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTCATTTCAGTAACATCATCAGAATCCCTAGCTC TGGCCTACCTCCTCAGTAACAATCAGCTGATCCCTGGCCACTAATCTGTACT CACTAATCTGTTTTCCAAACTCTTGGCCCTGAGCTAATTATAGCAGTGCTT CATGCCACCCACCCCAACCTATCCTTGTCTCTGACTCCCACTAATCTACA CATTTCAGAGGATTGTGGATATAAGAGGCTGGGAGGCCAGCTTAGCAACCAGA GCTCGAGGCTGATGCGAGCTTCATCTCTTCCCTC
小鼠视锥阻遏蛋白启动子 (CAR) (光感受器特异性) SEQ ID NO:116	TGATCCCTGGCCACTAATCTGTACTCACTAATCTGTTTTCCAAACTCTTGGC CCCTGAGCTAATTATAGCAGTGCTTCATGCCACCCACCCCAACCCCTATCCTT GTTCTCTGACTCCCACTAATCTACACATTCAGAGGATTGTGGATATAAGAGG CTGGGAGGCCAGCTTAGCAACCAGAGCTCGAGGCTGATGCGAGCTTCATCTC TTCCCTC
人视紫红质激酶 (RK) 或 GRK1 (光感受器特异性) SEQ ID NO:117	gggcccga gaagcctggt ggttgtttgt ccttctcagg ggaaaagtga ggcgccccc tggaggaagg ggcggggcag aatgatctaa tcggattcca agcagctcag gggattgtct tttctagca ccttcttgcc actcctaagc gtccctccgtg accccggctg ggatttagcc tgggtctgtg tcagccccgg
人卵黄状黄斑病蛋白 1 (BEST1) 启动子 (又名 hVMD2 启动子) SEQ ID NO:118	AAGG ACTCCTTTGT GGAGGTCCTG GCTTAGGGAG TCAAGTGACG GCGGCTCAGC ACTCACGTGG GCAGTGCCAG CCTCTAAGAG TGGGCAGGGG CACTGGCCAC AGAGTCCCAG GGAGTCCCAC CAGCCTAGTC GCCAGACC +38

[0170]

人卵黄状黄斑 病蛋白 1 (BEST1) 启动子 (又名 hVMD2 启动子) SEQ ID NO:119	GTCAAGTGACG GCGGCTCAGC ACTCACGTGG GCAGTGCCAG CCTCTAAGAG TGGGCAGGGG CACTGGCCAC <u>AGAGTCCCAG</u> GGAGTCCCAC CAGCCTAGTC GCCAGACC (转录起始位点残基在+1 处加下划线)
人卵黄状黄斑 病蛋白 1 (BEST1) 启动子 (又名 hVMD2 启动子) SEQ ID NO:120	CTCAGC ACTCACGTGG GCAGTGCCAG CCTCTAAGAG TGGGCAGGGG CACTGGCCAC <u>AGAGTCCCAG</u> GGAGTCCCAC CAGCCTAGTC GCCAGAC (转录起始位点残基在+1 处加下划线)
人卵黄状黄斑 病蛋白 1 (BEST1) 启动子 (又名 hVMD2 启动子) SEQ ID NO:121	TTAATAAACA TTTGGGCGAT TCTTACGGCC TCTAAAGACC AAGAACCACCT GCTGCCTAGA GCTCTGCTCT CTTCAATTGAA CAATACAAGA GGAGTGTGTA GGAGACACC CACCACTTCC AACAGCTTAG GAGAGCCCTT GAGTATGGAT TGATGTATTA AAATTTATTG AATCACATGC TGAGATTTTC ACCAGCTGCC CGTGGGGATC TGGGCATTTA TTCCCATATT GCACTGGCTG GCTGGAAGCC AGCAGCATAA ACTCCAGGGC TGTTCTGTCA ACCCCCACCA GACTCACCCC GCTCCACCAG CCCCAGGAGG CTTCTCCTTC CATCTCTCTG AAGCAACTTA CTGATGGGCC CTGCCAGCCA ATCAGAGCCA GAATAACGTA TGATGTCACC AGCAGCCAAT CAGAGCTCCT CGTCAGCATA TGCAGAATTC TGTCATTTTA CTAGGGTGAT GAAATTCCCA AGCAACACCA TCCTTTTCAGATAAGGGCAC TGAGGCTGAG AGAGGAGCTG AAACCTACCC GGCGTCACCA CACACAGGTG GCAAGGCTGG GACCAGAAAC CAGGACTGTT GACTGCAGCC CGGTATTCAT TCTTTCCATA GCCCAGAGG CTGTCAAAGA CCCCAGGGCC TAGTCAGAGG CTCCTCCTTC CTGGAGAGTT CCTGGCACAG AAGTTGAAGC TCAGCACAGC CCCCTAACCC CCAACTCTCT CTGCAAGGCC TCAGGGGTCA GAACACTGGT GGAGCAGATC CTTTAGCCTC TGGATTTTAG GGCCATGGTA GAGGGGGTGT TGCCCTAAAT TCCAGCCCTG GTCTCAGCCC AACACCCTCC AAGAAGAAAT TAGAGGGGCC ATGGCCAGGC TGTGCTAGCC GTTGCTTCTG AGCAGATTAC AAGAAGGGAC CAAGACAAGG ACTCCTTTGT GGAGGTCCTG GCTTAGGGAG TCAAGTGACG GCGGCTCAGC ACTCACGTGG GCAGTGCCAG CCTCTAAGAG TGGGCAGGGG CACTGGCCAC <u>AGAGTCCCAG</u> GGAGTCCCAC CAGCCTAGTC GCCAGACCTT CTGTGGGATC ATCGGACCCA (转录起始位点残基在+1 处加下划线; 最小活性启动子区为 粗体)
GRK1 启动子 SEQ ID NO:54	GGGCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTGTCTCTCAGGGGAAAAGTGAGGCGGCCCTTGGAG GAAGGGGCCGGGCAGAAATGATCTAATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGATTGTCTTTTCTAG CACCTTCTTGCCACTCCTAAGCGTCCTCCGTGACCCCGGCTGGGATTAGCCTGGTGCTGTGT CAGCCCCGGGCTCCAGGGGCTTCCAGTGGTCCCCAGGAACCCTCGACAGGGCCAGGGCGTC TCTCTCGTCAGCAAGGGCAGGGACGGGCCACAGGCCAAGGGC

[0171]

上游 Kozak 序列	GCCACC
兔 β -珠蛋白 polyA SEQ ID NO:55	gatctttttccctctgccccaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttct ggctaataaaggaaattttattttcattgcaatagtgtgttggaatttttgtgtctctcactc g
嵌合内含子 SEQ ID NO:56	gtaagtatcaagggttacaagacaggttttaaggagaccaatagaaactgggcttgcgagacag agaagactcttgcgtttctgataggcacctattggtcttactgacatccactttgcctttctc tccacag
VH4 内含子 SEQ ID NO:57	gtgagtatctcagggatccagacatggggatattgggaggtgcctctgatcccagggctcactg tgggtctctctgttcacag
SV40 内含子 SEQ ID NO:157	gtaagtttagtcttttctgtcttttatttcaggtcccgatccgggtggtggtgcaaatcaaga actgctcctcagtggatgttgctttacttctag
5'TR SEQ ID NO:58	ctgcgcgctcgctcgctcactgagccgcccgggcaagcccgggctcgggcgacctttggg cgcccggcctcagtgagcgcagcgcgcgcagagggagtgcccaactccatcactaggggt tctt
5'-ITR (自身互补 AAV 的缺失 D 序列) SEQ ID NO:59	ctgcgcgctcgctcgctcactgagccgcccgggcaagcccgggctcgggcgacctttggg cgcccggcctcagtgagcgcagcgcgcgcagagggagtggtg
3'-ITR AAV SEQ ID NO:60	gaaccctagtgtgatggagtgtggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgagccg cgggcaagcccgggctcgggcgacctttggtcgcccggcctcagtgagcgcagcgcgcgc agagagggagtggccaa
3'-ITR (自身互补 AAV 的缺失 D 序列) SEQ ID NO:61	ttggccactccctctctgcgcgctcgctcgctcactgagccgggcgaccaaaggctcgccga cgcccgggctttgcccgggcgccctcagtgagcgcagcgcgcgcag
CB 启动子 SEQ ID NO:159	gacgacattgattattgactagttattaatagtaataattacggggtcattagttcatagcc catatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggccgcctggctgacccgccaacg acccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggaactttcc attgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaaactgcccacttggcagtagacatcaagtgtatc atatgccaagtacgcccctattgacgtcaatgacggtaaatggccgcctggcatttatgccc agtacatgaccttatgggactttctacttggcagtagacatctacgtattagtcacgtctatta ccatgggtcgaggtgagccccacgttctgcttactctccccatctccccccctccccacccc caattttgattttatttttttaattattttgtgcagcgatggggcgggggggggggggg ggcgcgccagggcgggggcgggggcgagggcgggggcgggggcgagggcgagaggtgcgg cggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtctccttttatggcgaggcgggcgggcggc ggccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcg
CB 长启动子 (CB+100) SEQ ID NO:160	gacgacattgattattgactagttattaatagtaataattacggggtcattagttcatagcc catatatggagttccgcgttacataacttacggtaaatggccgcctggctgacccgccaacg acccccgcccattgacgtcaataatgacgtatgttcccatagtaacgccaatagggaactttcc attgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaaactgcccacttggcagtagacatcaagtgtatc atatgccaagtacgcccctattgacgtcaatgacggtaaatggccgcctggcatttatgccc agtacatgaccttatgggactttctacttggcagtagacatctacgtattagtcacgtctatta ccatgggtcgaggtgagccccacgttctgcttactctccccatctccccccctccccacccc caattttgattttatttttttaattattttgtgcagcgatggggcgggggggggggggg ggcgcgccagggcgggggcgggggcgagggcgggggcgggggcgagggcgagaggtgcgg cggcagccaatcagagcggcgcgctccgaaagtctccttttatggcgaggcgggcgggcggc ggccctataaaaagcgaagcgcgcggcgggcgggagtcgctgcgcgtgcttgcggcggtgc ccgctccgcccgcctcgcgccgcccgggctctgactgacccggttactccacagg tgagcg

[0172]

Best1/GRK1 串 联启动子 SEQ NO:161	ID	GTCGACAAATTCTGTCAATTTACTAGGGTGTGAAATTCCTCAAGCAACACCATCTTTTCAGAA TAAGGGCACTGAGGCTGAGAGAGGAGCTGAAACCTACCCGGGGTCACCAACACACAGGTGGCAA GGCTGGGACCAGAAACCAGGACTGTTGACTGCAGCCCGGTATTCTTTTCATAGCCCA GGGCTGTCAAAGACCCAGGGCCTAGTCAGAGGCTCCTCTCTCTGGAGAGTTCTTGGCACAG AAGTTGAAGCTCAGCACAGCCCCCTAACCCCAACTCTCTCTGCAAGGCTCAGGGGTGAGAA CACTGGTGGAGCAGATCTTTAGCCTCTGGATTTTAGGGCCATGGTAGAGGGGGTGTTCCTT AAATTCAGCCCTGGTCTCAGCCCAACACCTCCAAGAAGAAATTAGAGGGGCCATGGCCAGG CTGTGCTAGCCGTGCTTCTGAGCAGATTACAAGAAGGACTAAGACAAGGACTCCTTTGTGG AGGTCTGGCTTAGGGAGTCAAGTGACGGCGGCTCAGCACTCAGTGGGCAGTGCCAGCCTCT AAGAGTGGGCAGGGGCACTGGCCACAGAGTCCAGGGAGTCCACACAGCCTAGTCGCCAGATC TAGAGGGCCCCAGAAGCCTGGTGGTTGTTTGTCTTCTCAGGGGAAAAGTGAGGCGGCCCTT GGAGGAAGGGGCGGGCAGAAGATCTAATCGGATTCCAAGCAGCTCAGGGGATTTGCTTTTTC TAGCACCTTCTTGCCACTCCTAAGCGTCTCCGTGACCCCGGTGGGATTTAGCCTGGTGTG TGTGAGCCCGGGCTCCAGGGGCTTCCAGTGGTCCCGAGGAACCTTCGACAGGGCCAGGGC GTCTCTCTGTCAGCAAGGGCAGGGACGGGCCACAGGCCAAGGGCTTAAGC
---------------------------------------	----	--

[0173] 表1a.其他调控序列

[0174]

LSPX1 SEQ ID NO:122	aggttaatttttaaaaagcagtcacaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctgt ttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaaaaagc agtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctgtttgctctggttaataatct caggagcacaaacattccagatccggcgccagggtggaagctacctttgtctaga aggtcagaggcacacaggagtttctgggtcaccttcccccttcaaccctcagtt cccatctccagcagctgtttgtgtgtgctcctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccattgcc acctcaacatccactcgaccttggaaatttcggtggagaggagcagaggtgtcctg gcgtggtttaggtagtgtgagaggggtacccggggtctgtaccagtgaacagcca ctaaggattctgcagtgagagcagaggccagctaagtgttactctccagagactgtc tgactcacgccacccctccaccttggacacaggacgtgtgttctgagccaggtac aatgactccttcggttaagtgcagtggaaagtgtactgcccaggcaaaagcgtccggg cagcgtaggcgggagcactcagatccagccagtggacttagccctgttgcctcctcg ataactggggtgaccttggtaataattaccagcagcctccccgttggccctctggatcc actgcttaataacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactg acctgggacagt
LSXP2 SEQ ID NO:123	aggtcagaggcacacaggagtttctgggtcaccttcccccttcaaccctcagtt cccatctccagcagctgtttgtgtgtgctcctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccattgcc acctcaacatccactcgaccttggaaatttcggtggagaggagcagaggtgtcctg gcgtggtttaggtagtgtgagaggggtctagaaggctcagaggcacacaggagtttctgg gctcaccttggcccttcaaccctcagttccatctccagcagctgtttgtgtgtgc ctctgaagtccacactgaacaaactcagcctactcatgtccctaaaatgggcaaacattg caagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgaccttggagctggggc agaggtcagagacctctctgggcccattgccacctcaacatccactcgaccttggaa ttctggtggagaggagcagaggtgtcctggcgtggtttaggtagtgtgagaggggtac ccggggatctgtaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgagagcagaggg ccagctaagtgttactctccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttggac acaggacgtgtgttctgagccaggtacaatgactcctttcggttaagtgcagtgaag ctgtactgcccaggcaaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatccag ccagtggacttagccctgttctcctccgataactggggtgaccttggtaataattacc agcagcctccccgttggccctctggatccactgcttaataacggacgaggacagggc cctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LTP1	aggttaatttttaaaaagcagtcacaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctgt

[0175]

SEQ ID NO:124	ttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggtaatttttaaaagc agtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctgttctctggttaataatct caggagcacaaacattccagatccggcgccagggtggaagctacctttgacatca ttctctgcgaatgcatgtataattctacagaacctattagaaggatcaccagcctct gctttgtacaactttcccttaaaaaactgccaattccactgctgttggcccaatagtga acttttctgctgctcttgggtgctttgcctatggccctattctgctgctgaagacactc ttgccagcatggacttaaacccctccagctctgacaatcctcttctttgttttacatgaa gggtctggcagccaaagcaatcactcaaagttcaaacctatcatTTTTgtttgtcctctt ggcttggtttgtacatcagcttgaataaccatcccagggttaatgctggggttaattta taactaagagtgtctagtttgaatacaggacatgctataaaaatggaaagatgttgctt tctgagaggatcttctaccagtggacagccactaaggattctgcagtgcagagcagag ggccagctaagtgttactctccagagactgtctgactcacgccacccctccacctg gacacaggacgctgtggttctgagccaggtacagtactccttcggttaagtgcagtgg aagctgtacactgcccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcc cagccagtggacttagccctgttctcctccgataactggggtgaccttggttaatttc accagcagcctccccgttgcctctggatccactgcttaatacggacgaggacagg gccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LTP2 SEQ ID NO:125	aggtcagaggcacacaggagtcttgggtcacctgccccctccaacccctcagtt cccatcctccagcagctgttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgctgctgacctggagctggggcagaggctcagagacctctctgggcccattgcc acctcaacatccactgaccttggaaattcgggtggagaggagcagagggtgtcctg gcgtggttaggtagtgtgagagggtctagagcccttaagctagcaggttaatttttaaaa agcagtcaaaagtccaagtggcccttggcagcatttactctctctgttctgctggttaata atctcaggagcacaaacattccagatccaggtaatttttaaaaagcagtcaaaagtc gtggcccttggcagcatttactctctgttctgctggttaataatctcaggagcacaaac attccagatccggcgccagggtggaagctaccttgacatcatttctctgcgaatg catgtataatttctacagaacctattagaaggatcaccagcctctgctttgtacaacttt cccttaaaaaactgccaattccactgctgttggcccaatagtgaacttttctgctgc ctcttgggtgctttgcctatggccctattctgctgctgaagacactcttgccagcatgga cttaaacccctccagctctgacaatcctcttctctttgttttacatgaagggtctggcagcc aaagcaatcactcaaagttcaaacctatcatTTTTgttctcttggccttggtttga catcagcttgaataaccatcccagggttaatgctggggttaattataactaagagtgt ctatgttgaatacaggacatgctataaaaatggaaagatgttcttctgagaggatctt gctaccagtggacagccactaaggattctgcagtgcagagcagaggccagctaagt gtactctccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttgacacaggacgct gtggttctgagccaggtacagtactccttcggttaagtgcagtggaaagctgtacactgc ccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggactt agcccctgttctcctccgataactggggtgaccttggttaattaccagcagcctcc ccgttgcctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctctca gcttcaggcaccaccactgacctgggacagt

[0176]

LTP3 SEQ ID NO:126	aggtaatttttaaaaagcagtcacaaagtcgaagtgcccttggcagcatttactctctgt ttgctctggttaataatctcaggagcacaaacattccagatccaggttaatttttaaaaagc agtcaaaagtcgaagtgcccttggcagcatttactctctgtttgctctggttaataatct caggagcacaaacattccagatccggcgccagggtggaagctacctttgacatca tttctctgcgaatgcagtataatttctacagaacctattagaaaggatcacccagcctct gctttgtacaactttcccttaaaaaactgcaattccactgctgtttggcccaatagtga acttttctgctgctcttgggtgtttgcctatggccctattctgcctgctgaagacactc ttgccagcatggacttaaacccctccagctctgacaatcctcttttctttttacatgaa gggtctggcagccaaagcaatcactcaagttcaaaccttatcatttttgcctttgctctt ggccttggttttgtacatcagctttgaaaataccatcccagggttaatgctggggttaatt taactaagagtgtctagtgtttgaatacaggacatgtataaaaatggaagatgttgctt tctgagaggatctgtaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgaagcagag ggccagctaagtgtactctccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttg gacacaggacgtgtgtttctgagccaggtacagtactctttcggttaagtgcagtgg aagctgtacactgccaggcaaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcc cagccagtggacttagccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggtaatatc accagcagcctccccgttggccctctggatccactgcttaataacggacgaggacagg gccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagtaaacaggttaagtc cgctgtttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtcccta aatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgtga ccttggagctggggcagaggtcagagacctcttggcctctactaacatgttcagtgtt ctttttttctacaggctcctgggtgacgaacag
LMTP6 SEQ ID NO:127	aggctcagaggcacacaggagtcttgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccctcctccagcagctgtttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctcttgggcccatgcc acctcaacatccactcgaccccttggaaattcgggtggagaggagcagagggtgtcctg gcgtgttttaggtagtgtgagagggccactacgggtttaggctgccatgtaaggaggc aaggcctggggacacccgagatgcctggtataattaaccagacatgtggtgcccc cccccccccaacacctgctgctctaaaaataaccctgtccctgttgatccactacgg gtttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggtataa ttaaccagacatgtggtgcccccccccccccaacacctgctgctctaaaaataac cctgtccctgggtgatccactacgggtttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctg gggacacccgagatgcctggtataattaaccagacatgtggtgcccccccccccc caacacctgctgctctaaaaataaccctgtccctgggtggatccctgcagatcgaagatc ttcgaacaaggctgtgggggactgagggcaggtgtaacaggcttgggggccagggc ttatacgtgctgggactccaaagtattactgttccatgttccggcgaaggggcagctg tcccccgccagctagactcagcacttagtttaggaaccagtgaagcaagtcagccctgg ggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgcctgggtccggggtgg gcacggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctctcaggggccccctcctggg gacagccccctcctggtatgacaccctgtaggtcctctatataaccagggggcacag gggtgccccctattctaccaccacctccacagcacagacagacactcaggagccagcc agcgtcgagatctgtaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgaagcaga gggccagctaagtgtactctccagagactgtctgactcacgccacccctccacctt ggacacaggacgtgtgtttctgagccaggtacagtactctttcggttaagtgcagtg gaagctgtacactgccaggcaaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatc ccagccagtggacttagccctgtttgctcctccgataactggggtgaccttggtaatat caccagcagcctccccgttggccctctggatccactgcttaatacggacgaggacag ggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt

[0177]

LMTP13 SEQ ID NO:128	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgcctgtgaccttgagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccattgcc acctcaacatccactcgaccccttggaatttcggtggagaggagcagaggtgtcctg gcgtggtttaggtagtgtgagagggtaccggggatcttctaccagtctagaggccg tccgcctcggcaccatcctcacgacccaaatatggcgacgggtgaggaatggtgg ggagttatttttagagcgggtgaggaaggtgggcaggcagcaggtgttggcgtctaaaa ataactcccgggagttatttttagagcggaggaatggtggacccaaatatggcgacg gttcctcaccgctgccatatttgggtgtccgcctcggccggggccgcattcctgggg gccgggcggtgctcccggcgctcgataaaaggctccggggcgggcgggcgccca cgagctaccggaggagcgggagggcgccaagcgtgagtatcgtatctgtaccagt gaacagccactaaggattctgcagtgagagcagaggccagctaagtgttactctcc agagactgtctgactcacgccacccctccaccttgacacaggacgctgtggttctga gccaggtacagtactcctttcggttaagtgcagtgggaagctgtacactgccaggcaaa gcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggaacttagcccctgtt tgctcctccgataactggggtgaccttggttaattaccagcagcctccccgttgccc ctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggca ccaccactgacctgggacagt
LMTP14 SEQ ID NO:129	gaatggtggacacccaaatatggcgacggttcctcaccgctgccatatttgggtgtccg ccctcggccggggcgccgattcctggggggcgggcggtgtccccggcgctcgataa aaggctccggggcgggcgggcgcccacgagctaccggaggagcgggaggcgcc aagcgtatctgtaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgagagcagagggc cagctaagtgttactctcccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttgaca caggacgctgtggttctgagccaggtacagtactccttcggttaagtgcagtgggaagc tgtacactgccaggcaaacgctccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagc cagtggacttagcccctgttctcctccgataactggggtgaccttggttaattaccac gcagcctccccgttgcccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggcc ctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LMTP15 SEQ ID NO:130	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccatcctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgcctgtgaccttgagctggggcagaggtcagagacctctctgggcccattgcc acctcaacatccactcgaccccttggaatttcggtggagaggagcagaggtgtcctg gcgtggtttaggtagtgtgagagggtctagagaatggtggacacccaaatatggcgacg gttcctcaccgctgccatatttgggtgtccgcctcggccggggcgccgattcctgggg gccgggcggtgctcccggcgctcgataaaaggctccggggcgggcgggcgccca cgagctaccggaggagcgggagggcgccaagcgtatctgtaccagtgaacagcc actaaggattctgcagtgagagcagaggccagctaagtgttactctccagagactgt ctgactcacgccacccctccaccttgacacaggacgctgtggttctgagccaggtg cagtactccttcggttaagtgcagtgggaagctgtacactgccaggcaaacgctccgg gcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggaacttagcccctgttctcctcc gataactggggtgaccttggttaattaccagcagcctccccgttgcccctctggatc cactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccact gacctgggacagt

[0178]

LMTP18 SEQ ID NO:131	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccatcctccagcagctgtttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgctgctgacctggagctggggcagaggcagagacctctctgggccatgcc acctcaacatccactcgaccccttgaatttcggtggagaggagcagagggtgtcctg gctgtgttaggtagtgtgagaggccactacgggttaggtgcccattgaaggaggc aaggcctggggacaccgagatgcctggttataattaaccagacatgtggctgcccc cccccccaacacgtgctgctctaaaaataaccctgtccctggtggatccctgcagtg cgaagatctcgaacaaggctgtgggggactgagggcaggctgtaacaggcttgggg gccagggttatactgctgggactcccaagtattactgttccatgttccggcgag ggccagctgtccccgccagctagactcagcacttagtttaggaaccagttagcaagtc agcccttggggcagccatacaaggccatggggctgggcaagctgcacgctgggtc cggggtgggcacgggtgcccgggcaacgagctgaaagctcatctgctcaggggccc ctccctggggacagccctcctggctagtacacccctgtaggtcctctatataaccag gggcacaggggtgcccctattctaccaccacctccacagcacagacagacactcagg agccagccagcgtcgagatctgtaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtga gagcagaggggcagctaagtgttactctcccagagactgtctgactcacgccacccc tccaccttgacacaggacgtgtgtttctgagccaggtacagtactccttccgtaa gtgcagtggagctgtacactgccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggagc actcagatcccagccagtggacttagccctgtttgtcctccgataactggggtgacctt ggtaataattcaccagcagctccccgttcccctctggatccactgctaaatacggac gaggcagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
LMTP19 SEQ ID NO:132	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccatcctccagcagctgtttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgctgctgacctggagctggggcagaggcagagacctctctgggccatgcc acctcaacatccactcgaccccttgaatttcggtggagaggagcagagggtgtcctg gctgtgttaggtagtgtgagaggccctgcatgcgaagatcttcgaacaaggctgtgg gggactgagggcaggctgtaacaggcttggggccagggttatactgctgctgggact cccaaagtattactgttccatgttccggcgaggccagctgtccccgccagctaga ctacagacttagtttaggaaccagttagcaagtcagcccttggggcagccatacaagg ccatggggctgggcaagctgcacgcctgggtccggggtgggcacgggtgcccgggca acgagctgaaagctcatctgctcaggggcccctcctggggacagccctcctgggt agtcacacccctgtaggctcctctatataaccaggggcacaggggctgcccctattctac caccacctccacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcgagatctgtcta ccagtggaaacagccactaaggattctgcagttagagcagagggccagctaagtgttac tctccagagactgtctgactcacgccacccctccaccttggacacaggacgtgtgg tttctgagccaggtacagtactccttccgtaagtgcagtggaaagctgtacactgcca ggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatccagccagtggacttagc ccctgtttgtcctccgataactgggggtgaccttggtaataattcaccagcagcctcccc gttgcccctctggatccactgctaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagct tcaggcaccaccactgacctgggacagt
LMTP20 SEQ ID NO:133	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccatcctccagcagctgtttgtgtgctgctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgctgctgacctggagctggggcagaggcagagacctctctgggccatgcc acctcaacatccactcgaccccttgaatttcggtggagaggagcagagggtgtcctg gctgtgttaggtagtgtgagaggccctcagattaaaaataactgaggtaaaggccctg gtaggggaggtgtgtgagacgctcctgtctcctctatctgcccacggcccttgg

[0179]

	ggaggaggaatgtgcccaggactaaaaaaggccatggagccagaggggaggg gcaacagacattcatgggcaaacttggggccctgtgaagcttggccactacggg tttaggctgcccataaggaaggcaaggcctggggacaccgagatgctgtgataat taaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgctgctctaaaaataacc ctgtccctggtgatccctgcatgcgaagatctcgaacaaggctgtgggggactgag ggcaggctgtaacaggcttgggggcccagggttatactgctgggactcccaaagta ttactgttccatgttccggcggaaggggccagctgtccccgccagctagactcagcactt agtttaggaaccagtgaagcagccttggggcagccatacaaggccatggggg tgggcaagctgcacgcctgggtccggggtgggcacgggtgcccgggcaacgagctga aagctcatctgctctcaggggccccctcctggggacagccccctcctggctagtacacc ctgtaggctcctctatataaccaggggcacagggggtgccctcattctaccaccacctc cacagcacagacagacactcaggagccagccagcgtcgagatcttctaccagtga acagccactaaggattctgcagtgaagcagagggccagctaagtgttactctccag agactgtctgactcacgccacccccctccacctggacacaggacgctgtggttctgagc caggtagctgactccttccgtaagtgcagtgaagctgtactgcccaggcacaagc gtccgggacagcgtaggcgggagcactcagatcccagccagtgacttagccccgtttg ctcctccgataactggggtgacctgtgtaataattaccagcagcctccccgttgccct ctggatccactgctaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcac caccactgacctgggacagt
ApoE.hAAT SEQ ID NO:134	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccacctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaaatgggcaaacttgaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgcctgctgacctggagctggggcagaggtcagagacctctctggggccatgcc acctccaacatccactcgaccccttggaaattcgggtggagaggagcagaggtgtcctg gcgtggttaggtagtgtgagaggggtaccggggatcttctaccagtgaacagcca ctaaggattctgcagtgaagcagagggccagctaagtgttactctccagagactgtc tgactcacgccacccccctccacctggacacaggacgctgtggttctgagccaggta aatgactccttcggtaagtgcagtgaagctgtactgcccaggcacaagcgtccggg cagcgtaggcgggagcactcagatcccagccagtgacttagccccgtttgtcctccg ataactggggtgacctgtgtaataattaccagcagcctccccgttgccctctggtacc actgctaaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactg acctgggacagt
α -Mic/Bik 增强子 (Mic/BikE) SEQ ID NO:135	aggtaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggccctggcagcatttactctctgt ttgctctggtaataatctcaggagcacaaacattcc
串联(2) α -Mic/Bik 增强子 (2 个 Mic/BikE) SEQ ID NO:136	aggtaatttttaaaaagcagtcaaaagtccaagtggccctggcagcatttactctctgt ttgctctggtaataatctcaggagcacaaacattccaggtaatttttaaaaagcagtc aaagtccaagtggccctggcagcatttactctctgtttgctctggtaataatctcaggag cacaaacattcc
含有 ApoE 肝控制区的 ApoE 增强子 SEQ ID NO:137	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccacctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaactcagcc tactcatgtccctaaaaatgggcaaacttgaagcagcaaacagcaaacacacagccct ccctgcctgctgacctggagctggggcagaggtcagagacctctctggggccatgcc acctccaacatccactcgaccccttggaaattcgggtggagaggagcagaggtgtcctg gcgtggttaggtagtgtgagaggg
串联(2) ApoE 增强子	aggctcagaggcacacaggagtttctgggctcacctgccccctccaacccctcagtt cccacctccagcagctgtttgtgtgctgcctctgaagtccacactgaacaaactcagcc

[0180]

SEQ ID NO:138	tactcatgtccctaaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctgggccatgccacctccaacatccactcgaccccttggatttcggtggagaggagcagaggttctctggcgtgtttaggtagtgtgagagggtctagaaggctcagaggcacacaggagtttctggctcaccctgccccctccaacccctcagttccatctccagcagctgtttgtgtctgctctgaagtccacactgaacaaacttcagcctactcatgtccctaaaaatgggcaaacattgcaagcagcaaacagcaaacacacagccctccctgctgctgaccttggagctggggcagaggtcagagacctctctg
hAAT 启动子 SEQ ID NO:139	gatcttgctaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgcagagcagagggccagctaagtgggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacaatgactcctttcggtaagtgcagtggaaagctgtacactgccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagccctgtttgtctctccgataactggggtgaccttgggttaatatccaccagcagcctcccccggtgcccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
hAAT(Δ ATG)启动子 SEQ ID NO:140	gatcttgctaccagtggaaacagccactaaggattctgcagtgcagagcagagggccagctaagtgggtactctcccagagactgtctgactcacgccacccccctccaccttggacacaggacgctgtggtttctgagccaggtacagtgactcctttcggtaagtgcagtggaaagctgtacactgccaggcaaagcgtccgggcagcgtaggcgggcgactcagatcccagccagtggacttagccctgtttgtctctccgataactggggtgaccttgggttaatatccaccagcagcctcccccggtgcccctctggatccactgcttaatacggacgaggacagggccctgtctcctcagcttcaggcaccaccactgacctgggacagt
Mck 增强子 (MckE) SEQ ID NO:141	ccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataattaaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgtgcctctaaaaataaccctgtccctgggtggatc
串联(2) Mck 增强子 (2 个 MckE) SEQ ID NO:142	ccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataattaaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgtgcctctaaaaataaccctgtccctgggtggatc
串联 Mck (3)增强子 (3 个 MckE) SEQ ID NO:143	ccactacgggttaggctgccatgtaaggaggcaaggcctggggacacccgagatgcctggttataattaaccagacatgtggctgcccccccccccccaacacctgtgcctctaaaaataaccctgtccctgggtggatc
肌球蛋白重链增强子(MhcE) SEQ ID NO:144	ccctcagattaaaaataactgaggttaaggcctgggtaggggaggtgtgtgagacgctctgtctctctctatctgccatcgcccttggggaggaggaatgtcccaaggactaaaaaaggccatggagccagaggggcgagggcaacagaccttcatgggcaaaccttggggccctgctgaagctttggc

[0181] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含除启动子之外的一个或多个调控元件。在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含增强子。在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含阻遏蛋白。在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含内含子(例如,VH4内含子(SEQ ID NO:57)或嵌合内含子(SEQ ID NO:56))。病毒载体还可包括Kozak序列以促进转基因产物例如GCCACC的翻译。

[0182] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含转基因的编码区下游的聚腺苷酸化序列。发出转录终止信号并指导polyA尾合成的任何polyA位点都适用于本公开的AAV载体。

示例性polyA信号源自但不限于以下:SV40晚期基因、兔 β -珠蛋白基因(SEQ ID NO:55)、牛生长激素(BPH)基因、人生长激素(hGH)基因、合成的polyA(SPA)位点和牛生长激素(bGH)基因。参见例如Powell和Rivera-Soto,2015,Discov.Med.,19(102):49-57。

[0183] 提供了基因表达盒和包含基因表达盒的rAAV,其中转基因的表达由具有多于一个调控元件(启动子或增强子)的工程化核酸调控元件控制。

[0184] 5.2.4信号肽

[0185] 在某些实施方案中,本文提供的载体包含调节蛋白质递送的组分。在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含与编码抗TNF α Fc融合蛋白的核苷酸序列融合的一个或多个信号肽编码核苷酸序列,使得从转基因表达的蛋白质具有在N端的信号序列以指导分泌。信号肽在本文中也可称为“前导序列”或“前导肽”。在某些实施方案中,信号肽允许转基因产物在细胞中实现适当的包装(例如,糖基化)。在某些实施方案中,信号肽允许转基因产物在细胞中实现正确定位。在某些实施方案中,信号肽允许转基因产物实现从细胞中分泌。

[0186] 在基因疗法环境或在细胞培养中,有两种一般方法可以选择用于蛋白质产生的信号序列。一种方法是使用来自与被表达的蛋白质同源的蛋白质的信号肽。例如,人抗体信号肽可用于在CHO或其他细胞中表达IgG。另一种方法是鉴定针对用于表达的特定宿主细胞优化的信号肽。信号肽可在不同蛋白质之间或甚至在不同生物体的蛋白质之间互换,但通常该细胞类型中最丰富的分泌蛋白质的信号序列用于蛋白质表达。例如,人白蛋白(血浆中最丰富的蛋白质)的信号肽被发现可以显著提高CHO细胞的蛋白质产量。然而,某些信号肽在从表达的蛋白质中被切割后可能保留功能并发挥活性作为“靶向后功能”。因此,在具体的实施方案中,信号肽选自用于表达的细胞分泌的最丰富蛋白质的信号肽以避免靶向后功能。在某些实施方案中,信号序列与重链和轻链序列都融合。示例性序列是MYRMQLLLLIALSLALVTNS(SEQ ID NO:62),该序列可以由SEQ ID NO:63的核苷酸序列编码(参见表2、图2A和图2B)。另选地,适于表达并且可引起HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白在眼睛(眼组织)中选择性表达或定向表达的信号序列在下表2中提供。还提供了在肝脏(表3)和肌肉(表4)细胞中有活性的信号序列。

[0187] 表2.用于在眼睛中表达的信号肽

[0188]

信号肽来源	SEQ ID NO:	序列
突变体白介素 2 信号肽	62	MYRMQLLLIALSLALVTNS
突变体白介素 2 信号肽编码序列	63	atgtataggatgcaactgctcctctgattgctctgagcctggctcttgtgaccaactct
VEGF-A 信号肽	64	MNFLLSWVHWSLALLLYLHHAKWSQA
腓骨蛋白 -1 信号肽	65	MERAAPSRRVPLPLLLLGGLALLAAGVDA
玻连蛋白信号肽	66	MAPLRPLLILALLAWVALA
补体因子 H 信号肽	67	MRLAKIICLMLWAICVA
视蛋白信号肽	68	MRLLAFLSLLALVLQETGT
白蛋白信号肽	69	MKWVTFISLLFLFSSAYS
胰凝乳蛋白酶原信号肽	70	MAFLWLLSCWALLGTTFG
白介素-2 信号肽	71	MYRMQLLSCIALILALVTNS
胰蛋白酶原-2 信号肽	72	MNLLLILTFVAAAVA

[0189] 表3. 用于在肝细胞中表达的信号肽。

[0190]

信号肽来源	SEQ ID NO:	序列
人血清白蛋白	73	MKWVTFISLLFLFSSAYS
人 α -1 抗胰蛋白酶 (SERPINA1)	74	MPSSVSWGILLLAGLCCLVPVSLA
人载脂蛋白 A-1	75	MKAAVLTLAVLFLTGSQA
人载脂蛋白 A-2	76	MKLLAATVLLLTICSLEG
人载脂蛋白 B-100	77	MDPPRPALLALLALPALLLLLLLAGARA
人凝血因子 IX	78	MQRVNMIMAESPGLITICLLGYLLSAEC
人补体 C2	79	MGPLMVLFCLLFLYPGLADS
人补体因子 H 相关蛋白 2 (CFHR2)	80	MWLLVSVILISRISSVGG
人补体因子 H 相关蛋白 5 (CFHR5)	81	MLLLFSVILISWVSTVGG
人纤维蛋白原 α 链(FGA)	82	MFSMRIVCLVLSVVGTAWT
人纤维蛋白原 β 链(FGB)	83	MKRMVSWSFHKLKTMKHLLLLLLLCVFLVKS
人纤维蛋白原 γ 链(FGG)	84	MSWSLHPRNLILYFYALLFLSSTCVA
人 α -2-HS-糖蛋白(AHSG)	85	MKSLVLLLCLAQLWGCHS
人血液结合素 (HPX)	86	MARVLGAPVALGLWSLCWSLAIA
人激肽原-1	87	MKLITILFLCSRLLLSLT
人甘露糖结合蛋白 C (MBL2)	88	MSLFPSLPLLLSMVAASYS
人纤溶酶原 (PLMN)	89	MEHKEVVLLLLFLKSGQG
人凝血酶原(凝血因子 II)	90	MAHVRGLQLPGCLALAALCSLVHS
人分泌型磷蛋白 24	91	MISRMEKMTMMMILIMFALGMNYWSCSG
人抗凝血酶 -III (SERPINC1)	92	MYSNVIGTVTSGKRKVYLLSLLIGFWDCVTC

[0191]	信号肽来源	SEQ ID NO:	序列
	人血清转铁蛋白(TF)	93	MRLAVGALLVCAVLGLCLA

[0192] 表4.用于在肌细胞中表达的信号肽。

[0193]	信号肽来源	SEQ ID NO:	序列
	人 SPARC	94	MRAWIFFLLCLAGRALA
	人胶原 α -1(I)链	95	MFSFVDLRLLLLLAATALLTHG
	人乳转铁蛋白	96	MKLVFLVLLFLGALGLCLA
	人补体 C3	97	MGPTSGPSLLLLLLTHLPLALG
	人光蛋白聚糖	98	MSLSAFTLFLALIGGTSG
	人凝溶胶蛋白同工型 1	99	MAPHRPAPALLCALSLALCALSLPVRA
	人组织蛋白酶原 H	100	MWATLPLLCAGAWLLGVPVCGA
	人 SERPINF1	101	MQALVLLLCIGALLGHSSC
	人 SERPINE1	102	MQMSPALTCLVLGLALVFGECSA
	人组织蛋白酶 D	103	MQPSSLLPLALCLLAAPASA
	人 TIMP1	104	MAPFEPLASGILLLLWLIAPSRA
	人纤连蛋白	105	MLRGP GPGLLLLAVQCLGTAVPSTGASKSKR
	人补体 C1s 亚组分	106	MWCIVLFSLLAWVYA
	人组织蛋白酶 L1	107	MNPTLILAAFCGLGISA
	人组织蛋白酶 B	108	MWQLWASLCCLLVLANA
	人富唾液酸性脯氨酸磷酸蛋白 1/2	109	MLLILLSVALLAFSSA
	人卵泡抑素相关蛋白 1	110	MWKRWLALALALVAVAWVRA

[0194] 5.2.5非翻译区

[0195] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含一个或多个非翻译区(UTR),例如3'和/或5'UTR。在某些实施方案中,针对所需蛋白质表达水平优化UTR。在某些实施方案中,针对转基因的mRNA半衰期优化UTR。在某些实施方案中,针对转基因的mRNA的稳定性优化UTR。在某些实施方案中,针对转基因的mRNA的二级结构优化UTR。

[0196] 5.2.6反向末端重复序列

[0197] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体包含一个或多个反向末端重复(ITR)序列。ITR序列可用于将重组基因表达盒包装到病毒载体的病毒粒子中。在某些实施方案中,ITR来自AAV,例如AAV8或AAV2(参见例如Yan等人,2005,J.Virol.,79(1):364-379;美国专利号7,282,199 B2、美国专利号7,790,449 B2、美国专利号8,318,480 B2、美国专利号8,962,332 B2和国际专利申请号PCT/EP2014/076466,这些文献各自以引用的方式整体并入本文)。在优选的实施方案中,编码ITR的核苷酸序列可例如包含SEQ ID NO:58(5'-ITR)或60(3'-ITR)的核苷酸序列。在某些实施方案中,可使用用于产生自身互补载体(例如,

scAAV)的经修饰的ITR(参见例如Wu,2007,Human Gene Therapy,18(2):171-82;McCarty等人,2001,Gene Therapy,第8卷,第16期,第1248-1254页;以及美国专利号6,596,535、7,125,717和7,456,683,这些文献各自以引用的方式整体并入本文)。在优选的实施方案中,编码经修饰的ITR的核苷酸序列可例如包含SEQ ID NO:58(5'-ITR)或60(3'-ITR)的核苷酸序列或者针对于scAAV修饰的核苷酸序列SEQ ID NO:59(m 5' ITR)或SEQ ID NO:61(m 3' ITR)。

[0198] 5.2.7转基因

[0199] 转基因编码HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白,例如基于本文公开的治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的TNFR1:Fc融合蛋白或TNFR2:Fc融合蛋白。在具体的实施方案中,HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白被工程化以含有在TNFR和/或Fc结构域上的另外的糖基化位点。另外,抗TNF α Fc融合蛋白的Fc结构域可被工程化以改变N297处的糖基化位点,从而防止该位点的糖基化(例如,在N297处取代另一个氨基酸和/或在T297处取代不是T或S的残基以敲除糖基化位点)。此类Fc结构域是“无糖基化的”。

[0200] 5.2.7.1用于表达HuPTM TNFR:Fc融合蛋白的构建体

[0201] 在某些实施方案中,转基因编码抗TNF α 融合蛋白,其中抗TNF α Fc融合蛋白包含人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,该可溶性细胞外部分诸如通过肽键与含有免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接。

[0202] 在某些实施方案中,转基因编码TNFR2(SEQ ID NO:2)的细胞外结构域的全部或TNF α 结合部分,该部分与免疫球蛋白重链(SEQ ID NO:3或4)的Fc结构域(包括例如铰链、CH2和CH3结构域)的全部或部分融合。在优选的实施方案中,转基因编码抗TNF α Fc融合蛋白,其中抗TNF α Fc融合蛋白包含TNFR2的人可溶性细胞外结构域,该人可溶性细胞外结构域诸如通过肽键与人IgG1的Fc结构域(包括重链CH2和重链CH3以及铰链区)共价连接,该Fc结构域在表达后缔合形成二聚体TNFR2:Fc融合蛋白。具体地,抗TNF α Fc融合蛋白是依那西普(具有带前导序列的SEQ ID NO:10或11的氨基酸序列)或依那西普的任何生物类似物形式,包括依那西普-szzs (**ERELZI®**)和依那西普-ykro (**ETICOVO®**)。

[0203] 在其他实施方案中,转基因编码TNFR1(SEQ ID NO:1)的可溶性细胞外结构域的全部或部分,该部分与免疫球蛋白重链Fc结构域(SEQ ID NO:6或7)的全部或部分融合。在优选的实施方案中,转基因编码抗TNF α Fc融合蛋白,其中抗TNF α Fc融合蛋白包含TNFR1的人可溶性细胞外结构域,该人可溶性细胞外结构域诸如通过肽键与人IgG1的Fc部分(包括重链CH2和重链CH3以及铰链区)共价连接,该Fc部分在表达后缔合形成二聚体TNFR1:Fc融合蛋白(SEQ ID NO:12)。在一些实施方案中,TNFR1经由凝血酶切割位点LVPRGS(SEQ ID NO:8)与Fc结构域融合。在某些实施方案中,抗TNF α Fc融合蛋白是EYS060(具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列)。

[0204] 重组AAV构建体在细胞、细胞培养物中或在受试者体内表达HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白。编码TNFR的可溶性细胞外结构域以及Fc结构域的核苷酸序列可针对人细胞中表达被密码子优化,并且在序列中具有降低的CpG二聚体发生率以促进在人细胞中表达。在优选的实施方案中,转基因编码本文公开的任何治疗性抗TNF α Fc融合蛋白,例如本文在图1或图2(图2A和图2B中提供的序列)中描绘的TNFR:Fc融合物。

[0205] 在某些实施方案中,Fc结构域是IgG Fc结构域,但在其他实施方案中,Fc区可以是

IgA、IgD、IgE或IgM。从转基因表达的Fc融合蛋白可具有IgG1、IgG2、IgG3或IgG4 Fc结构域，但优选地源自人IgG1。Fc结构域可以包括本文所述的重链CH1、铰链、CH2和CH3结构域的一些或全部(参见图4和表5)或者它们的片段或变体。

[0206] Fc融合蛋白的Fc结构域具有随抗体同种型而变化的一种或多种效应功能。效应功能可以与野生型或治疗性Fc融合蛋白的功能相同，或者可以使用下文在第5.2.8节中公开的Fc修饰对其进行修饰以增加、增强、改进或抑制一种或多种效应功能。在某些实施方案中，HuPTM非单克隆抗体转基因编码包含Fc多肽的融合蛋白，所述Fc多肽包含与如表6中针对依那西普所示的本文所述的治疗性融合蛋白的Fc结构域多肽或者表5中所示的IgG1、IgG2或IgG4同种型的示例性Fc结构域中所示的序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，HuPTM融合蛋白包含Fc多肽或作为表5中的Fc多肽序列的变体的序列，因为该序列已用下文在第5.2.8节中描述的一种或多种技术修饰以改变Fc多肽的效应功能。

[0207] 重组AAV构建体在细胞、细胞培养物中或在受试者体内表达HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白。编码抗TNF α Fc融合蛋白的核酸序列可针对在人细胞中表达被密码子优化，并且在序列中具有降低的CpG二聚体发生率以促进在人细胞中表达。在优选的实施方案中，转基因编码本文公开的任何治疗性抗TNF α Fc融合蛋白，例如本文在图2A和图2B中描绘的治疗性抗TNF α Fc融合蛋白依那西普或EYS606，并且在某些实施方案中包括表6或另选地表5中提供的相关Fc结构域。Fc结构域在第5.2.8节中进一步讨论。示例性Fc结构域序列在表6以及图3和表5中提供。图2A提供了TNFR2:Fc融合物依那西普的氨基酸序列，并且图2B提供了TNFR1:Fc融合物EYS606的氨基酸序列(还可参见表6)。

[0208] 在一些实施方案中，用于表达抗TNF α Fc融合蛋白的转基因可包含编码人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分的核酸序列，该可溶性细胞外部分诸如通过肽键与含有免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接，如本文进一步描述。在一些实施方案中，TNFR1经由凝血酶切割位点(SEQ ID NO:8)与Fc结构域融合。

[0209] 编码如本文公开的治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的TNFR1或TNFR2的可溶性细胞外结构域、任选地凝血酶切割位点、铰链区和IgG1 Fc链(CH2+CH3)的核苷酸序列在表7中提供。在某些实施方案中，这些核苷酸序列被密码子优化以在人细胞中表达。参见例如表7的依那西普的密码子优化序列(SEQ ID NO 15-18)。

[0210] 转基因可包括形成链间二硫键的铰链区的部分(例如，含有序列CPPCPA(SEQ ID NO:153)的部分)。不含有包含序列CCPCPA(SEQ ID NO:153)的铰链区的部分的Fc结构域序列不会形成链内二硫键，而在C端具有含有序列CPPCPA(SEQ ID NO:153)的铰链区的部分的那些Fc融合结构域序列将形成链内二硫键，因此将形成二聚体融合蛋白片段。在一些实施方案中，铰链含有氨基酸序列EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG(SEQ ID NO:145)的全部或部分，并且具体地为EPKSCDKTHL(SEQ ID NO:146)、EPKSCDKTHT(SEQ ID NO:147)、EPKSCDKTHTCPPCPA(SEQ ID NO:148)、EPKSCDKTHLCPPCPA(SEQ ID NO:149)、DKTHTCPPCPAPELLGG(SEQ ID NO:21)、DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL(SEQ ID NO:152)、EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL(SEQ ID NO:150)或EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL(SEQ ID NO:151)。

[0211] 在某些实施方案中，本文提供的病毒载体按以下顺序包含以下元件:a)组成型或

诱导型(例如,缺氧诱导型或利福霉素诱导型)启动子序列或组织特异性启动子/调节区,例如表1或表1a中提供的调节区中的一种,特别是促进眼组织特异性表达的启动子,以及b) 编码转基因(例如,抗TNF α Fc融合蛋白)的序列。在某些实施方案中,包含转基因的序列编码抗TNF α Fc融合蛋白,该融合蛋白包含人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,该可溶性细胞外部分诸如通过肽键与含有免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接。在某些实施方案中,包含转基因的序列编码在抗TNF α Fc融合蛋白的N端的指导所述人眼组织细胞中的分泌和翻译后修饰的信号序列。在其他实施方案中,该序列编码具有SEQ ID NO:10、11或12的氨基酸序列的转基因产物。在优选的实施方案中,抗TNF α 融合蛋白是依那西普或EYS606。

[0212] 在某些实施方案中,本文提供的病毒载体按以下顺序包含以下元件:a) 组成型或诱导型启动子序列或组织特异性启动子,诸如表1和表1a中的启动子或调节区中的一种,以及b) 编码转基因(例如,抗TNF α Fc融合蛋白)的序列,其中转基因包含信号肽、人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,该可溶性细胞外部分诸如通过肽键与包含免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接以形成抗TNF α Fc融合蛋白。在其他实施方案中,本文提供的病毒载体按以下顺序具有以下元件:a) 表1和表1a中所列的眼组织特异性启动子,以及b) 编码包含信号肽的转基因的序列,其中转基因包含信号肽、人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分,该可溶性细胞外部分诸如通过肽键与含有免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接以形成抗TNF α Fc融合蛋白。在具体的实施方案中,本文提供的病毒载体还包含与具有LSPRGS(SEQ ID NO:158)的氨基酸序列的TNFR结构域的C端连接的凝血酶切割位点。

[0213] 在具体的实施方案中,提供了AAV载体,所述AAV载体包含:病毒衣壳,所述病毒衣壳与AAV2.7m8衣壳、AAV8衣壳、AAV3B衣壳或AAVrh73衣壳的氨基酸序列具有至少95%同一性(参见图3);以及包含侧接AAV反向末端重复序列(ITR)的表达盒的人工基因组,其中所述表达盒包含编码抗TNF α Fc融合蛋白的转基因,所述转基因可操作地连接至控制所述转基因在一种或多种眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列。

[0214] 可施用编码和表达治疗性融合蛋白的rAAV载体以治疗或预防或改善适合用治疗性融合蛋白治疗、预防或改善症状的疾病或疾患的症状。还提供了使用rAAV载体和编码它们的构建体在人细胞中表达HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的方法。

[0215] 5.2.8Fc区修饰

[0216] 在某些实施方案中,转基因编码缔合形成二聚体Fc融合蛋白的抗TNF α Fc融合蛋白。因此,转基因包含编码例如人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分的核苷酸序列,该可溶性细胞外部分诸如通过肽键与含有免疫球蛋白重链的Fc结构域的多肽共价连接(图2A和图2B),包括重链的铰链区的全部或一部分和Fc结构域肽的N端。表6提供了本文所述的某些治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的Fc多肽的氨基酸序列。另选地,可使用IgG2或IgG4 Fc结构域,它们的序列在图4和表5中提供。如详述的,转基因可包含编码用于治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的Fc结构域多肽的核苷酸序列,该核苷酸序列在如本文提供的铰链区的N端与编码人TNFR的可溶性细胞外部分的核苷酸序列连接(其中氨基酸序列在图2A和图2B以及表6中提供)。

[0217] 术语“Fc区”是指两个“Fc多肽”(或“Fc结构域”)的二聚体,每个“Fc多肽”包含抗体

的重链恒定区,不包括第一恒定区免疫球蛋白结构域。在一些实施方案中,“Fc区”包括通过一个或多个二硫键、化学接头或肽接头连接的两个Fc多肽。“Fc多肽”是指IgA、IgD和IgG的至少最后两个恒定区免疫球蛋白结构域或者IgE和IgM的最后三个恒定区免疫球蛋白结构域,并且还可包括柔性铰链N端至这些结构域的部分或全部。对于IgG,例如,“Fc多肽”包含免疫球蛋白结构域Cgamma2 (C γ 2,通常称为CH2结构域) 和Cgamma3 (C γ 3,也称为CH3结构域),并且可包括Cgamma1 (C γ 1,也称为CH1结构域) 与CH2结构域之间的铰链结构域的下部。尽管Fc多肽的边界可变化,但人IgG重链Fc多肽通常被定义为包含从T223或C226或P230开始到其羧基端的残基,其中编号是根据如Kabat等人(1991,NIH Publication 91-3242, National Technical Information Services, Springfield, Va.) 的EU索引。对于IgA,例如,Fc多肽包含免疫球蛋白结构域Calpha2 (Ca2) 和Calpha3 (Ca3), 并且可包括Calpha1 (Ca1) 与Ca2之间的铰链的下部。

[0218] 在某些实施方案中,Fc多肽是依那西普或EYS606的Fc多肽(参见表6)。在其他实施方案中,Fc多肽是IgG Fc多肽。Fc多肽可来自IgG1、IgG2或IgG4同种型(参见图4关于IgG1、IgG2和IgG4 Fc结构域序列的比对,根据EU编号进行编号),或者可以是IgG3 Fc结构域,这取决于例如治疗性抗体的所需效应活性。在一些实施方案中,包括Fc结构域的工程化重链恒定区(CH)是嵌合的。因此,嵌合CH区组合了源自一种以上免疫球蛋白同种型和/或亚型的CH结构域。例如,嵌合(或杂合)CH区包含来自IgG、IgA和/或IgM的Fc区的部分或全部。在其他示例中,嵌合CH区包含源自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的部分或全部CH2结构域,这些结构域与源自人IgG1、人IgG2或人IgG4分子的CH3结构域的部分或全部组合。在其他实施方案中,嵌合CH区含有嵌合铰链区。

[0219] 表5.Fc结构域氨基酸序列表

Fc 结构域	链 /SEQ ID NO.	序列
IgG1	47	<i>EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</i>

[0220]

Fc 结构域	链 /SEQ ID NO.	序列
[0221] IgG2	48	<i>ERKCCVECPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV CVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN STFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DISVEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</i>
		<i>ESKYGPSPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFY PSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSRLTVD KSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK</i>

[0222] 在一些实施方案中,重组载体编码包含工程化(突变)Fc区(例如,IgG恒定区的工程化Fc区)的治疗性Fc融合物。与具有野生型IgG恒定区或者没有对IgG抗体的抗体恒定区、Fc区或Fc片段的修饰的IgG重链恒定区的相应抗体相比,所述修饰可改变一种或多种效应功能,诸如Fc受体结合或新生儿Fc受体(FcRn)结合,从而改变半衰期、CDC活性、ADCC活性和/或ADPC活性。因此,在一些实施方案中,抗体可被工程化以提供表现出改变的与一种或多种Fc受体(例如,Fc γ RI、Fc γ RIIA、Fc γ RIIB、Fc γ RIIIA、Fc γ RIIIB、Fc γ RIV或FcRn受体)的结合(与没有所述修饰的参考或野生型恒定区相比)的IgG抗体的抗体恒定区、Fc区或Fc片段。在一些实施方案中,抗体是与具有野生型IgG恒定区或没有所述修饰的IgG恒定区的相应抗体相比表现出一种或多种改变的效应功能(诸如CDC、ADCC或ADCP活性)的IgG抗体的抗体恒定区、Fc区或Fc片段。

[0223] “效应功能”是指由抗体Fc区与Fc受体或配体的相互作用引起的生化事件。效应功能包括Fc γ R介导的效应功能(诸如ADCC和ADCP)和补体介导的效应功能(诸如CDC)。

[0224] “效应细胞”是指表达一种或多种Fc受体并介导一种或多种效应功能的免疫系统细胞。效应细胞包括但不限于单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突细胞、嗜酸性粒细胞、肥大细胞、血小板、B细胞、大颗粒淋巴细胞、朗格汉斯细胞、自然杀伤(NK)细胞和T细胞,并且可来自任何生物体,包括但不限于人、小鼠、大鼠、兔和猴。

[0225] “ADCC”或“抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”是指细胞介导的反应,其中表达Fc γ R的非特异性细胞毒性效应(免疫)细胞识别靶细胞上结合的抗体并随后引起靶细胞的裂解。

[0226] “ADCP”或“抗体依赖性细胞介导的吞噬作用”是指细胞介导的反应,其中表达Fc γ R的非特异性细胞毒性效应(免疫)细胞识别靶细胞上结合的抗体并随后引起靶细胞的吞噬作用。

[0227] “CDC”或“补体依赖性细胞毒性”是指其中一种或多种补体蛋白组分识别靶细胞上结合的抗体并随后引起靶细胞的裂解的反应。

[0228] 在一些实施方案中,参考IgG恒定区的EU编号(参见图4),Fc结构域的修饰包括但不限于以下修饰和它们的组合:233、234、235、236、237、238、239、248、249、250、252、254、255、256、258、265、267、268、269、270、272、276、278、280、283、285、286、289、290、292、293、

294、295、296、297、298、301、303、305、307、308、309、311、312、315、318、320、322、324、326、327、328、329、330、331、332、333、334、335、337、338、339、340、342、344、356、358、359、360、361、362、373、375、376、378、380、382、383、384、386、388、389、398、414、416、419、428、430、433、434、435、437、438和439。

[0229] 在某些实施方案中,Fc区包含IgG的氨基酸残基251-256、285-290、308-314、385-389和428-436中的一种或多种的氨基酸添加、缺失或取代。在一些实施方案中,251-256、285-290、308-314、385-389和428-436 (Kabat的EU编号;参见图4) 被组氨酸、精氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天冬酰胺或谷氨酰胺取代。在一些实施方案中,非组氨酸残基被组氨酸残基取代。在一些实施方案中,组氨酸残基被非组氨酸残基取代。

[0230] 与具有野生型Fc的抗体相比,具有工程化Fc的抗体增强FcRn结合使得亲和力增强的抗体优先结合FcRn,因此使得FcRn亲和力增强的抗体的净循环增强,这使得抗体半衰期进一步增加。增强的循环方法允许高效靶向和清除抗原,包括例如“高滴度”循环抗原,诸如C5、细胞因子或者细菌或病毒抗原。

[0231] 在某些实施方案中提供了与野生型Fc区(没有工程化修饰)相比在血清中与FcRn的结合增强的IgG抗体的经修饰的恒定区、Fc区或Fc片段。在一些情况下,抗体(例如,IgG抗体)被工程化以在中性pH下(例如,在pH 7.4或以上)与FcRn结合,以与野生型Fc区(没有工程化修饰)相比增强与FcRn结合的pH依赖性。在一些情况下,抗体(例如,IgG抗体)被工程化以相对于野生型IgG和/或在酸性pH下与FcRn结合的参考抗体以及与在血清中与FcRn的结合(例如,在中性pH下,例如在pH 7.4或以上)相比表现出在核内体中与FcRn的结合(例如,在酸性pH下,例如,在pH 6.0或以下)增强(例如,亲和力或 K_D 增加)。提供了具有IgG抗体的工程化抗体恒定区、Fc区或Fc片段的抗体,所述抗体与具有野生型IgG恒定区或不具有所述修饰的IgG恒定区的相应抗体相比表现出改善的血清或驻留组织半衰期;

[0232] 此类Fc修饰的非限制性示例包括例如位置250(例如,E或Q)、250和428(例如,L或F)、252(例如,LN/Y/W或T)、254(例如,S或T)和256(例如,S/R/Q/E/D或T)处的修饰;或者位置428和/或433(例如,H/L/R/S/P/Q或K)和/或434(例如,H/F或Y)处的修饰;或者位置250和/或428处的修饰;或者位置307或308(例如,308F、V308F)和434处的修饰。在一个实施方案中,所述修饰包括428L(例如,M428L)和434S(例如,N434S)修饰;428L、259I(例如,V259I)和308F(例如,V308F)修饰;433K(例如,H433K)和434(例如,434Y)修饰;252、254和256(例如,252Y、254T和256E)修饰;250Q和428L修饰(例如,T250Q和M428L);以及307和/或308修饰(例如,308F或308P)(EU编号;参见图4)。

[0233] 在一些实施方案中,Fc区可以是突变形式,诸如包括M252突变(例如,M252Y和S254T和T256E(“YTE突变”))的hIgG1 Fc,所述突变形式对人FcRn表现出增强的亲和力(Dall'Acqua等人,2002,J Immunol 169:5171-5180),随后该突变抗体的晶体结构与hFcRn结合,从而产生两个盐桥(Oganesyan等人,2014,JBC 289(11):7812-7824)。具有YTE突变的抗体已被施用于猴和人,并且显著改善了药代动力学特性(Haraya等人,2019,Drug Metabolism and Pharmacokinetics,34(1):25-41)。

[0234] 在一些实施方案中,对Fc区中的一个或多个氨基酸残基进行修饰可减少全身循环(血清)中的半衰期,然而通过禁止FcRn结合(例如,H435A,Kabat的EU编号)使得组织中(例如,眼睛中)的保留得到改善(Ding等人,2017,MAbs 9:269-284;以及Kim,1999,Eur J

Immunol 29:2819)。

[0235] 在一些实施方案中,Fc结构域可被工程化以激活所有、一些正常的Fc效应功能或者不激活任何正常的Fc效应功能,而不影响Fc多肽(例如,抗体)所需的药代动力学特性。具有改变的效应功能的Fc多肽可能是期望的,因为它们可减少治疗性蛋白质的不希望的副作用,诸如效应细胞的活化。

[0236] 改变或甚至消除效应功能的方法可包括对抗体的铰链区氨基酸残基进行突变或修饰。例如,根据EU编号系统,包含234A、237A和238S取代的IgG Fc结构域突变体表现出减少的补体依赖性裂解和/或细胞介导的破坏。下铰链中的缺失和/或取代(例如,其中铰链结构域内的位置233-236(EU编号)被缺失或修饰为甘氨酸)在本领域中已被证明可以显著降低ADCC和CDC活性。

[0237] 在具体的实施方案中,Fc结构域是无糖基化Fc结构域,所述结构域在残基297或299处具有取代以改变297处的糖基化位点,使得Fc结构域不被糖基化。此类无糖基化Fc结构域可具有降低的ADCC或其他效应活性。

[0238] 本领域在以下文献中描述了包含具有改变的效应功能的突变和/或嵌合CH区的蛋白质的非限制性示例以及工程化和测试突变抗体的方法:例如K.L.Amour等人,Eur.J.Immunol.1999,29:2613-2624;Lazar等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 2006,103:4005;2007年6月14日公布的美国专利申请公布号20070135620A1;2008年6月26日公布的美国专利申请公布号20080154025 A1;2010年9月16日公布的美国专利申请公布号20100234572 A1;2012年9月6日公布的美国专利申请公布号20120225058 A1;2015年11月26日公布的美国专利申请公布号20150337053 A1;2016年10月6日公布的国际公布号W020/16161010A2;2016年6月7日公布的U.S.9,359,437;以及2018年8月21日发布的美国专利号10,053,517,所有这些文献以引用的方式并入本文。

[0239] 在所有人IgG亚类的重链基因中保守的C端赖氨酸(-K)通常不存在于在血清中循环的抗体中-所述C端赖氨酸在循环中被切除,从而产生循环IgG的异质群体(van den Bremer等人,2015,mAbs 7:672-680)。在全长mAb的载体化构建体中,编码Fc末端的C端赖氨酸(-K)或甘氨酸-赖氨酸(-GK)的DNA可以被缺失以原位产生更均一的抗体产物。(参见Hu等人,2017Biotechnol.Prog.33:786-794,其以引用的方式整体并入本文)。

[0240] 5.2.9载体的制造和测试

[0241] 本文提供的病毒载体可使用宿主细胞来制造。本文提供的病毒载体可使用哺乳动物宿主细胞(例如,A549、WEHI、10T1/2、BHK、MDCK、COS1、COS7、BSC 1、BSC 40、BMT 10、VERO、W138、HeLa、293、Saos、C2C12、L、HT1080、HepG2、原代成纤维细胞、肝细胞和成肌细胞)来制造。本文提供的病毒载体可使用来自人、猴、小鼠、大鼠、兔或仓鼠的宿主细胞来制造。

[0242] 将宿主细胞用编码转基因和相关元件(例如,载体基因组)的序列以及在宿主细胞中产生病毒的手段(例如,复制和衣壳基因(例如,AAV的rep和cap基因))稳定地转化。对于产生具有AAV8衣壳的重组AAV载体的方法,参见美国专利号7,282,199 B2的具体实施方式的第IV部分,该专利以引用的方式整体并入本文。所述载体的基因组拷贝滴度可例如通过TAQMAN®分析来确定。可例如通过CsCl₂沉降来回收病毒粒子。

[0243] 另选地,昆虫细胞中的杆状病毒表达系统可用于产生AAV载体。关于综述,参见Aponte-Ubillus等人,2018,Appl.Microbiol.Biotechnol.102:1045-1054,关于制造技术

所述文献以引用的方式整体并入本文。

[0244] 体外测定(例如,细胞培养测定)可以用于测量来自本文所述的载体的转基因表达,从而指示例如载体的效力。例如, **PER.C6®**细胞系(Lonza),一种源自人胚胎视网膜细胞或视网膜色素上皮细胞的细胞系,例如,视网膜色素上皮细胞系hTERT RPE-1(可从 **ATCC®**获得)可用于评估转基因表达。一旦表达,就可以确定表达产物的特性,包括确定与人糖基化抗TNF α Fc融合蛋白相关的糖基化和酪氨酸硫酸化模式。糖基化模式及其确定方法在第5.4节中讨论。另外,可以使用本领域已知的测定(例如,第5.4节中描述的方法)来确定由于细胞表达的人糖基化抗TNF α Fc融合蛋白的糖基化/硫酸化产生的益处。

[0245] 可以使用数字PCR(dPCR)或ddPCR™(BioRad Technologies, Hercules, CA, USA)来评价载体基因组浓度(GC)或载体基因组拷贝。在一个示例中,在几个时间点获得眼组织样品,诸如水状液和/或玻璃状液样品。在另一个示例中,在注射后的不同时间点处死几只小鼠。对眼组织样品进行总DNA提取和dPCR测定以获得载体拷贝数。每克组织的载体基因组(转基因)的拷贝可在单个活组织检查样品中测量,或在连续的时间点在不同的组织切片中测量,这将揭示AAV在整个眼睛中的传播。利用DNeasy Blood&Tissue Kit从收集的眼部流体或组织中提取总DNA,并使用Nanodrop分光光度计测量DNA浓度。为了确定每个组织样品中的载体拷贝数,利用Naica Crystal Digital PCR系统(Stilla technologies)进行数字PCR。应用双色多路复用系统同时测量转基因AAV和内源对照基因。简而言之,转基因探针可以用FAM(6-羧基荧光素)染料标记,而内源对照探针可以用VIC荧光染料标记。在特定组织切片中每二个倍体细胞中的递送载体的拷贝数计算为:(载体拷贝数)/(内源对照)×2。特定细胞类型或组织(诸如角膜、虹膜、睫状体、施莱姆氏管细胞、小梁网、视网膜细胞、RPE细胞、RPE-脉络膜组织或视神经细胞)中随着时间推移的载体拷贝可指示组织持续表达转基因。

[0246] 5.2.9组合物

[0247] 适合施用于人受试者的药物组合物包含重组载体在配制缓冲液中的悬浮液,所述配制缓冲液包含生理学上相容的水性缓冲液、表面活性剂和任选的赋形剂。这种配制缓冲液可以包含多糖、表面活性剂、聚合物或油中的一种或多种。在一些实施方案中,药物组合物包含与药学上可接受的载剂组合的rAAV以施用于受试者。在一个实施方案中,术语“药学上可接受的”是指由联邦政府或州政府的监管机构批准的或在美国药典或其它普遍认可的药典中列出的,用于在动物体内并且更特别地在人体内使用。术语“载剂”是指与剂一起施用的稀释剂、佐剂(例如,弗氏完全和不完全佐剂)、赋形剂或媒介物。此类药物载剂可以是无菌液体,诸如水和油,包括石油、动物、植物或合成来源的那些油,包括例如花生油、大豆油、矿物油、芝麻油等。当静脉内施用药物组合物静时,水是常用的载剂。盐水溶液以及右旋糖和甘油水溶液也可用作液体载剂,特别是对于可注射溶液而言。合适的药物赋形剂包括淀粉、葡萄糖、乳糖、蔗糖、明胶、麦芽、大米、面粉、白垩、硅胶、硬脂酸钠、甘油单硬脂酸酯、滑石、氯化钠、脱脂奶粉、甘油、丙烯、乙二醇、水、乙醇等。药学上可接受的载剂、赋形剂和稳定剂的另外示例包括但不限于缓冲剂,诸如磷酸盐、柠檬酸盐和其他有机酸;抗氧化剂,包括抗坏血酸;低分子量多肽;蛋白质,诸如血清白蛋白和明胶;亲水性聚合物,诸如聚乙烯吡咯烷酮;氨基酸,诸如甘氨酸、谷氨酰胺、天冬酰胺、精氨酸或赖氨酸;单糖、二糖和其他碳水化合物,包括葡萄糖、甘露糖或糊精;螯合剂,诸如EDTA;糖醇,诸如甘露醇或山梨醇;成盐抗

衡离子如钠;以及/或者非离子表面活性剂,诸如本领域已知的TWEEN™、聚乙二醇(PEG)和PLURONICS™。本发明的药物组合物除了上述成分之外还可包括润滑剂、润湿剂、甜味剂、调味剂、乳化剂、助悬剂和防腐剂。这些组合物可呈溶液、悬浮液、乳剂、片剂、丸剂、胶囊、粉末、持续释放制剂等形式。

[0248] 5.3治疗非感染性葡萄膜炎的方法

[0249] 在另一个方面,提供了用于治疗有需要的受试者的非感染性葡萄膜炎或可以用抗TNF α Fc融合蛋白治疗的其他适应症的方法,所述方法包括施用包含编码抗TNF α Fc融合蛋白及其变体的表达盒的重组AAV颗粒。有需要的受试者包括患有非感染性葡萄膜炎的受试者或易患非感染性葡萄膜炎的受试者,例如处于发展非感染性葡萄膜炎或可用抗TNF α Fc融合蛋白治疗的其他适应症的风险或者具有非感染性葡萄膜炎或所述适应症复发的风险中的受试者。施用这种基因疗法的受试者可以是对抗TNF α (例如,依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗或戈利木单抗)有反应的那些受试者。在具体的实施方案中,所述方法包括治疗已被诊断患有非感染性葡萄膜炎并且在某些实施方案中,被鉴定为对用抗TNF α Fc融合蛋白治疗有反应或被认为是用抗TNF α Fc融合蛋白的疗法的良好候选者的患者。在具体的实施方案中,患者先前已用抗TNF α Fc融合蛋白治疗。为了确定反应性,可将抗TNF α Fc融合蛋白(例如,在人培养物、生物反应器等中产生)直接施用于受试者。

[0250] 在具体的实施方案中,提供了治疗有需要的人受试者的非感染性葡萄膜炎或适合用抗TNF α Fc融合蛋白治疗的其他适应症的方法,所述方法包括:向所述受试者的眼睛(或肝脏和/或肌肉)施用治疗有效量的重组核酸表达载体,所述重组核酸表达载体包含编码抗TNF α Fc融合蛋白Fc区的转基因,所述转基因可操作地连接至控制所述转基因在人眼组织细胞中表达的一个或多个调控序列,从而形成释放HuPTM形式的mAb或其抗原结合片段的贮库。视网膜下、玻璃体内、前房内或脉络膜上腔施用应使得可溶性转基因产物在以下视网膜细胞类型中的一种或多种中表达:人光感受器细胞(视锥细胞、视杆细胞);水平细胞;双极细胞;无长突细胞;视网膜神经节细胞(侏儒细胞、伞状细胞、双层细胞、巨视网膜神经节细胞、光敏神经节细胞和米勒神经胶质细胞);以及视网膜色素上皮细胞或其他眼组织细胞:角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

[0251] 用于治疗有需要的受试者的疾病或病症的重组载体和药物组合物在第5.2节中描述。此类载体应对人眼组织或肝脏和/或肌肉细胞具有嗜性,并且可以包括非复制型rAAV,特别是带有AAV2.7m8、AAV3B、AAV8、AAAV9、AAV10、AAVrh10或AAVrh73衣壳的那些。重组载体可以以使得重组载体进入眼组织细胞的任何方式(例如,通过将重组载体引入眼睛中)施用。此类载体还应包含控制转基因在人眼组织细胞和/或人肝脏和肌肉细胞中表达的一种或多种调控序列,包括但不限于人视紫红质激酶(GRK1)启动子(SEQ ID NO:54或117)、小鼠视锥阻遏蛋白(CAR)启动子(SEQ ID NO:114-116)、人红色视蛋白(Red0)启动子(SEQ ID NO:112)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161)(还可参见表1和表1a)。

[0252] 5.4N-糖基化、酪氨酸硫酸化和O-糖基化

[0253] 本文公开的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的氨基酸序列(一级序列)各自包含至少一个发生N-糖基化或O-糖基化的位点(关于Fc融合蛋白的氨基酸序列内的糖基化位置参见图2A和图2B)。翻译后修饰也发生在全长抗体的Fc结构域中,特别是在残基N297处(通过EU编

号,参见图4)。

[0254] 另选地,可将突变引入Fc结构域以改变残基N297处的糖基化位点(EU编号,参见图4),特别是用另一个氨基酸取代297处的天冬酰胺或299处的苏氨酸以去除糖基化位点,从而产生无糖基化Fc结构域。

[0255] 5.4.1N-糖基化

[0256] 反向糖基化位点

[0257] 本领域已知规范N-糖基化序列是Asn-X-Ser(或Thr),其中X可以是除Pro以外的任何氨基酸。然而,最近已经证明人抗体的天冬酰胺(Asn)残基可以在反向共有基序Ser(或Thr)-X-Asn(其中X可以是除Pro以外的任何氨基酸)的情形下被糖基化。参见Valliere-Douglass等人,2009,J.Biol.Chem.284:32493-32506;以及Valliere-Douglass等人,2010,J.Biol.Chem.285:16012-16022。如本文所公开,本文公开的某些抗TNF α Fc融合蛋白包含规范和/或反向共有序列。

[0258] 非共有糖基化位点

[0259] 除了反向N-糖基化位点之外,最近已经证明人抗体的谷氨酰胺(Gln)残基可以在非共有基序Gln-Gly-Thr的背景下被糖基化。参见Valliere-Douglass等人,2010,J.Biol.Chem.285:16012-16022。令人惊讶的是,本文公开的某些HuGlyFab片段包含此类非共有序列。另外,0-糖基化包括通过酶将N-乙酰基-半乳糖胺添加到丝氨酸或苏氨酸残基。已经证明存在于抗体的铰链区中的氨基酸残基可以被O-糖基化。与例如大肠杆菌(E.coli)中产生的抗原结合片段相比,0-糖基化的可能性赋予本文提供的治疗性抗TNF α Fc融合蛋白另一个优势,同样是因为大肠杆菌天然不含有与人O-糖基化中使用的机制等同的机制。(相反,大肠杆菌中的O-糖基化只有当细菌被修饰以含有特定的O-糖基化机制时才能被证明。参见例如Farid-Moayer等人,2007,J.Bacteriol.189:8088-8098。)

[0260] 工程化N-糖基化位点

[0261] 在某些实施方案中,编码抗TNF α Fc融合蛋白的核酸被修饰以包括比通常与HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白缔合的多1、2、3、4、5、6、7、8、9、10个或更多个N-糖基化位点(包括规范N-糖基化共有序列、反向N-糖基化位点和非共有N-糖基化位点)(例如,相对于与其未修饰状态的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白缔合的N-糖基化位点的数量)。在具体的实施方案中,糖基化位点的引入是通过在抗原结合片段的一级结构的任何地方插入N-糖基化位点(包括规范N-糖基化共有序列、反向N-糖基化位点和非共有N-糖基化位点)来实现的,只要所述引入不影响抗体或抗原结合片段与其抗原的结合即可。糖基化位点的引入可以通过例如将新的氨基酸添加到可溶性细胞外TNFR结构域或Fc结构域的一级结构中(例如,完全或部分添加糖基化位点)或者通过突变可溶性细胞外TNFR结构域或Fc结构域中的现有氨基酸以便生成N-糖基化位点(例如,不添加氨基酸,但是突变抗TNF α Fc融合蛋白的选定氨基酸以形成N-糖基化位点)来实现。本领域技术人员将认识到可以使用本领域已知的方法容易地修饰蛋白质的氨基酸序列,例如包括对编码蛋白质的核酸序列进行修饰的重组方法。

[0262] 在一个具体的实施方案中,抗TNF α Fc融合蛋白被修饰,使得当在哺乳动物细胞(诸如视网膜、CNS、肝脏或肌肉细胞)中表达时,它可以被高糖基化。

[0263] HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的N-糖基化

[0264] 与小分子药物不同,生物制剂通常包含具有不同修饰或形式的许多变体的混合

物,这些变体可以具有不同的效力、药代动力学和/或安全性特征。在基因疗法或蛋白疗法方法中产生的每个分子都是完全糖基化和硫酸化的并不是必需的。而是,产生的糖蛋白群体应具有足够的糖基化(包括2,6-唾液酸化)和硫酸化以证明功效。本文提供的基因疗法治疗的目的可以是例如减缓或阻止疾病或异常状况的进展或者降低与疾病或异常状况相关的一种或多种症状的严重性。

[0265] 当HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白在人细胞中表达时,Fc融合蛋白的N-糖基化位点可以用各种不同的聚糖糖基化。Fc结构域的糖基化已被表征,是天冬酰胺297处的单个N-连接聚糖(EU编号;参见图4)。聚糖发挥完整的结构和功能作用,影响抗体效应功能,诸如与Fc受体结合(关于对Fc糖基化在抗体功能中的作用的讨论,参见例如Jennewein和Alter,2017, Trends In Immunology 38:358了)。去除Fc区聚糖几乎完全消除了效应功能(Jennewien和Alter,在362处)。Fc聚糖的组成已被证明可影响效应功能,例如,高半乳糖基化和岩藻糖基化的减少已被证明可增加ADCC活性,而唾液酸化与抗炎作用相关(同上,在364处)。疾病状态、遗传学和甚至饮食都会影响体内Fc聚糖的组成。对于重组表达的抗体和Fc融合蛋白,聚糖组成可能因用于重组表达的宿主细胞类型而显著不同,并且可以使用策略来控制 and 修改在细胞培养物(诸如CHO)中重组表达的治疗性抗体中聚糖的组成以改变效应功能(参见例如Hansen等人的US 2014/0193404)。因此,本文提供的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白可有利地具有在N297处的聚糖,该聚糖比在非人宿主细胞中表达的抗体更像天然人聚糖组合物。

[0266] 重要的是,当HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白在人细胞中表达时,规避了在原核宿主细胞(例如,大肠杆菌)或真核宿主细胞(例如,CHO细胞或NS0细胞)中进行体外生产的需要。相反,作为本文所述的方法的结果,HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的N-糖基化位点被有利地装饰有与人治疗相关和有益于人治疗的聚糖。这种优势在CHO细胞、NS0细胞或大肠杆菌用于抗体/抗原结合片段生产时是无法实现的,因为例如CHO细胞(1)不表达2,6唾液酸转移酶,因此在此N-糖基化期间不能添加2,6唾液酸;(2)可以添加Neu5Gc作为唾液酸而不是Neu5Ac;并且(3)还可以产生免疫原性聚糖,即 α -Gal抗原,其与存在于大多数个体中的抗 α -Gal抗体反应,在高浓度下可以触发过敏反应;并且因为(4)大肠杆菌天然不含有N-糖基化所需的组分。

[0267] 用于确定抗TNF α Fc融合蛋白的糖基化模式的测定是本领域已知的。例如,胼解可以用于分析聚糖。首先,通过与胼孵育从多糖的相关蛋白中释放多糖(可以使用Ludger Liberate胼解聚糖释放试剂盒(Oxfordshire,UK))。亲核试剂胼攻击多糖与载体蛋白之间的糖苷键,并允许释放附接的聚糖。N-乙酰基基团在该处理期间丢失,必须通过重新N-乙酰化重构。还可以使用酶(诸如糖苷酶或内切糖苷酶,诸如PNGase F和Endo H,这些酶与胼相比可以干净地切割并且具有更少的副反应)来释放聚糖。可以在碳柱上纯化游离聚糖,随后在还原端用荧光团2-氨基苯甲酰胺标记。可以根据Royle等人,Anal Biochem 2002,304 (1):70-90的HPLC方案在GlycoSep-N柱(GL Sciences)上分离标记的多糖。所得的荧光色谱图指示多糖长度和重复单元的数量。可以通过收集单个峰并随后进行MS/MS分析来聚集结构信息。由此可以确认单糖组成和重复单元的序列,另外可以鉴定多糖组成的同质性。可以通过MALDI-MS/MS来分析低或高分子量的特定峰,并且结果用于确认聚糖序列。色谱图中的每个峰对应于由一定数目的重复单元和其片段(例如,糖残基)组成的聚合物(例如,聚糖)。因此,色谱图允许测量聚合物(例如,聚糖)的长度分布。洗脱时间是聚合物长度的指示,而

荧光强度与相应聚合物(例如,聚糖)的摩尔丰度相关。用于评估与抗TNF α Fc融合蛋白缔合的聚糖的其他方法包括Montacir等人,2018,The Protein Journal,37(2),164-179描述的那些。

[0268] 可以使用本领域已知的方法(例如,测量聚糖长度或大小以及流体动力学半径的方法)来评估与抗TNF α Fc融合蛋白缔合的聚糖模式的同质性或异质性,因为其与聚糖长度或大小以及跨糖基化位点存在的聚糖数量有关。HPLC(诸如尺寸排阻、正相、反相和阴离子交换HPLC)以及毛细管电泳允许测量流体动力学半径。与具有较少糖基化位点的载体相比,蛋白质中的糖基化位点数量较多导致流体动力学半径的变化较大。然而,当分析单个聚糖链时,它们可能由于长度更受控制而更均一。可以通过胍解、SDS PAGE和毛细管凝胶电泳来测量聚糖长度。另外,同质性还可以意指某些糖基化位点使用模式变为更宽/更窄的范围。这些因子可以通过糖肽LC-MS/MS来测量。

[0269] 在某些实施方案中,HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白也不含有可检测的NeuGc和/或 α -Gal。所谓“可检测的NeuGc”或“可检测的 α -Gal”或“不含有或不具有NeuGc或 α -Gal”在本文中意指HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白不含有可通过本领域已知的标准测定方法检测的NeuGc或 α -Gal部分。例如,可根据Hara等人,1989,“Highly Sensitive Determination of N-Acetyl-and N-Glycolylneuraminic Acids in Human Serum and Urine and Rat Serum by Reversed-Phase Liquid Chromatography with Fluorescence Detection.” J.Chromatogr.,B:Biomed.377,111-119(关于检测NeuGc的方法该文献以引用的方式据此并入)通过HPLC来检测NeuGc。另选地,可通过质谱来检测NeuGc。可使用ELISA(参见例如Galili等人,1998,“A sensitive assay for measuring α -Gal epitope expression on cells by a monoclonal anti-Gal antibody.”Transplantation.65(8):1129-32)或通过质谱(参见例如Ayoub等人,2013,“Correct primary structure assessment and extensive glyco-profiling of cetuximab by a combination of intact,middle-up,middle-down and bottom-up ESI and MALDI mass spectrometry techniques.”Landes Bioscience.5(5):699-710)来检测 α -Gal。还可参见Platts-Mills等人,2015,“Anaphylaxis to the Carbohydrate Side-Chain Alpha-gal”Immunol Allergy Clin North Am.35(2):247-260中引用的参考文献。

[0270] N-糖基化的益处

[0271] N-糖基化赋予本文所述的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白许多益处。通过在大肠杆菌中产生抗TNF α Fc融合蛋白不能获得这些益处,因为大肠杆菌天然不具有N-糖基化所需的组分。此外,一些益处通过在例如CHO细胞(或鼠细胞,诸如NS0细胞)中产生抗体是无法实现的,因为CHO细胞缺乏添加某些聚糖(例如,2,6唾液酸和二等分GlcNAc)所需的组分,并且因为CHO或鼠细胞系添加对人而言不是天然的(和潜在免疫原性的)N-乙酰神经氨酸(“Neu5Gc”或“NeuGc”),而不是N-乙酰神经氨酸(“Neu5Ac”) (主要的人唾液酸)。参见例如Dumont等人,2015,Crit.Rev.Biotechnol.36(6):1110-1122;Huang等人,2006,Anal.Biochem.349:197-207(NeuGc是鼠细胞系诸如SP2/0和NS0中的主要唾液酸);以及Song等人,2014,Anal.Chem.86:5661-5666,这些文献各自以引用的方式整体并入本文。此外,CHO细胞还可以产生免疫原性聚糖,即 α -Gal抗原,其与存在于大多数个体中的抗 α -Gal抗体反应,在高浓度下可以触发过敏反应。参见例如Bosques,2010,Nat.Biotech.28:1153-

1156. 本文所述的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的人糖基化模式应降低转基因产物的免疫原性并提高功效。

[0272] 虽然非规范糖基化位点通常会导致抗TNF α Fc融合蛋白群体的糖基化水平较低(例如, 1-5%), 但功能益处可能很显著(参见例如van de Bovenkamp等人, 2016, J. Immunol. 196:1435-1441)。例如, 糖基化可影响抗体的稳定性、半衰期和结合特性。为了确定抗TNF α Fc融合蛋白糖基化对融合蛋白对其靶标的亲和力的影响, 可使用本领域技术人员已知的任何技术, 例如酶联免疫吸附测定(ELISA)或表面等离子共振共振(SPR)。为了确定糖基化对抗TNF α Fc融合蛋白的半衰期的影响, 可使用本领域技术人员已知的任何技术, 例如通过测量已经施用放射性标记抗体的受试者的血液或器官中的放射性水平。为了确定糖基化对抗TNF α Fc融合蛋白的稳定性(例如, 聚集或蛋白质解折叠的水平)的影响, 可使用本领域技术人员已知的任何技术, 例如差示扫描量热法(DSC)、高效液相色谱法(HPLC)(例如, 尺寸排阻高效液相色谱法(SEC-HPLC))、毛细管电泳、质谱或浊度测量。

[0273] 在用于本文所述的方法中的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白上存在唾液酸可能影响HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的清除率。因此, HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的唾液酸模式可以用于生成具有优化清除率的治疗剂。评估抗TNF α Fc融合蛋白清除率的方法是本领域已知的。

[0274] 在另一个具体的实施方案中, N-糖基化赋予的益处是减少聚集。被占据的N-糖基化位点可以掩盖容易聚集的氨基酸残基, 从而使得聚集减少。此类N-糖基化位点可以是本文使用的抗TNF α Fc融合蛋白的天然位点或被工程化到本文使用的抗原结合片段中, 从而产生当表达时(例如, 在人细胞中表达时)更不易聚集的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白。评估抗体聚集的方法是本领域已知的。参见例如Courtois等人, 2016, mAbs 8:99-112, 其以引用的方式整体并入本文。

[0275] 在另一个具体的实施方案中, N-糖基化赋予的益处是降低免疫原性。此类N-糖基化位点可以是本文使用的抗原结合片段的天然位点或被工程化到本文使用的抗原结合片段中, 从而产生当表达时(例如, 在人眼组织细胞中表达时)更不易具有免疫原性的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白。

[0276] 在另一个具体的实施方案中, N-糖基化赋予的益处是蛋白质稳定性。众所周知, 蛋白质的N-糖基化赋予它们稳定性, 并且评估由于N-糖基化产生的蛋白质稳定性的方法是本领域已知的。参见例如Sola和Griebenow, 2009, J Pharm Sci., 98(4):1223-1245。

[0277] 在另一个具体的实施方案中, N-糖基化赋予的益处是改变结合亲和力。用于测量结合亲和力的测定是本领域已知的。

[0278] 5.4.20-糖基化

[0279] O-糖基化包括通过酶将N-乙酰基-半乳糖胺添加到丝氨酸或苏氨酸残基。已经证明存在于抗TNF α Fc融合蛋白的铰链区中的氨基酸残基可以被O-糖基化。在某些实施方案中, 抗TNF α Fc融合蛋白包含其铰链区的全部或部分, 因此当在人细胞中表达时能够被O-糖基化。与例如大肠杆菌中产生的抗TNF α Fc融合蛋白相比, O-糖基化的可能性赋予本文提供的抗TNF α Fc融合蛋白另一个优势, 同样是因为大肠杆菌天然不含有与人O-糖基化中使用的机制等同的机制。(相反, 大肠杆菌中的O-糖基化只有当细菌被修饰以含有特定的O-糖基化机制时才能被证明。参见例如Farid-Moayer等人, 2007, J. Bacteriol. 189:8088-8098。)O-糖基化抗TNF α Fc融合蛋白由于具有聚糖而与N-糖基化抗TNF α Fc融合蛋白(如上所述)

共享有利特性。

[0280] 5.5用于非感染性葡萄膜炎的载体化HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白构建体和制剂

[0281] 描述了用于递送HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白诸如与肿瘤坏死因子- α (TNF α) 结合的TNFR1:Fc融合蛋白或TNFR2:Fc融合蛋白,诸如依那西普或EYS606(图2A和图2B)并且指示用于治疗非感染性葡萄膜炎的组合物和方法。在某些实施方案中,HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白具有依那西普或EYS606或者它们的生物类似物或生物改良物的氨基酸序列。融合蛋白的人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分以及Fc结构域的氨基酸序列在图2A和图2B以及表6中提供。递送可经由基因疗法来完成,例如通过将编码治疗性抗TNF α Fc融合蛋白的病毒载体或其他DNA表达构建体(和/或其高糖基化衍生物或其他衍生物)施用于被诊断具有非感染性葡萄膜炎的一种或多种症状的患者(人受试者),以产生将HuPTM(例如,人糖基化转基因产物)持续供应至眼组织的永久贮库。

[0282] 转基因

[0283] 提供了含有编码与TNF α 结合的HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白的转基因的重组载体,所述重组载体可以被施用以在患者体内递送HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白。转基因是包含编码抗TNF α Fc融合蛋白(诸如依那西普或EYS606,或如本文详述的它们的变体)的核苷酸序列的核酸,该融合蛋白包含人TNF α 受体I型(TNFR1)或II型(TNFR2)的可溶性细胞外部分以及Fc结构域。转基因还可编码含有另外的糖基化位点的抗TNF α Fc融合蛋白(例如参见Courtois等人)。

[0284] 在某些实施方案中,抗TNF α 转基因包含编码TNFR2:Fc融合蛋白依那西普(具有SEQ ID NO:10或11的氨基酸序列,参见表6和图2A)的核苷酸序列。核苷酸序列可被密码子优化以在人细胞中表达。核苷酸序列可例如包含SEQ ID NO:13-18的核苷酸序列(编码如表7中所示的依那西普转基因序列)。TNFR2:Fc融合序列具有在N端的适于在人细胞、特别是一种或多种眼组织细胞中表达和分泌的信号或前导序列。信号序列可具有氨基酸序列MYRMQLLLIALLSLALVTNS(SEQ ID NO:62)。另选地,该信号序列可具有选自表2中所示的信号序列中任一种的对应于由一种或多种眼组织细胞分泌的蛋白质的氨基酸序列。另选地,该信号序列可适于在肌肉或肝脏细胞中表达,诸如下文在表3和表4中所列的那些。

[0285] 除了TNFR 2型结构域的可溶性细胞外蛋白以及包括C_H2和C_H3结构域序列的Fc恒定区之外,转基因还可包含在重链C_H2结构域序列的N端的铰链区的全部或部分。在具体的实施方案中,Fc结构域具有SEQ ID NO:4的氨基酸序列,该氨基酸序列具有在N端的另外的铰链区序列(例如,具有铰链的SEQ ID NO:3)或含有氨基酸序列EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG(SEQ ID NO:145)的全部或部分,并且具体地为EPKSCDKTHL(SEQ ID NO:146)、EPKSCDKTHT(SEQ ID NO:147)、EPKSCDKTHTCPPCPA(SEQ ID NO:148)、EPKSCDKTHLCPPCPA(SEQ ID NO:149)、EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL(SEQ ID NO:150)或EPKSCDKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL(SEQ ID NO:151)。抗TNF α Fc融合蛋白的Fc结构域可具有SEQ ID NO:3或4的氨基酸序列(表6)或者IgG1 Fc结构域(诸如图4所示)或者其突变体或变体。Fc结构域可被工程化以改变与一种或多种Fc受体的结合和/或效应功能,如下文在第5.2.8节中公开。

[0286] 依那西普的表达可由组成型或组织特异性启动子指导。在某些实施方案中,转基因含有CAG启动子(SEQ ID NO:51)、CB启动子(SEQ ID NO:159)、CB长启动子(SEQ ID NO:161)、GRK1(SEQ ID NO:54)启动子或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161)。另选地,启动子可

以是组织特异性启动子(或包括启动子和增强子元件的调控序列),诸如GRK1启动子(SEQ ID NO:54或117)、(小鼠视锥阻遏蛋白(CAR)启动子(SEQ ID NO:114-116)、人红视蛋白(Red0)启动子(SEQ ID NO:112)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161)。关于示出基因组配置的示意图参见图1。转基因可含有表1中提供的元件。编码依那西普的示例性转基因在表7中提供并且包括CAG.依那西普(SEQ ID NO:16)或mU1a.Vh4i.依那西普.scAAV(SEQ ID NO:18)。ITR序列被添加到构建体的5'和3'端以生成产生CAG.依那西普(SEQ ID NO:15)和U1a.Vh4i.依那西普.scAAV(SEQ ID NO:17)的基因组。在某些实施方案中,构建体是自身互补的构建体。转基因可被包装到AAV中,特别是AAV2.7m8、AAV8、AAV3B或AAVrh73中。

[0287] 在某些实施方案中,转基因编码包含TNFR 2型结构域的可溶性细胞外部分的抗TNF α Fc融合蛋白,该融合蛋白包含与SEQ ID NO:2中所示的序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,转基因编码包含Fc结构域的抗TNF α Fc融合蛋白,该融合蛋白包含与SEQ ID NO:3中所示的序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,转基因编码抗TNF α Fc融合蛋白,该融合蛋白包含与SEQ ID NO:10或11中所示的序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在具体的实施方案中,TNFR2:Fc融合蛋白包含具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15个或更多个氨基酸取代、插入或缺失的氨基酸序列SEQ ID NO:10或11,并且进行所述取代、插入或缺失。

[0288] 在某些实施方案中,抗TNF α 转基因包含编码TNFR1:Fc融合蛋白EYS606(具有SEQ ID NO:12的氨基酸序列,参见表6和图2B)的核苷酸序列。核苷酸序列可被密码子优化以在人细胞中表达。TNFR1:Fc融合蛋白具有在N端的适于在人细胞、特别是一种或多种形成视网膜的细胞中表达和分泌的信号或前导序列。信号序列可具有氨基酸序列MYRMQLLLLIALLSLALVTNS(SEQ ID NO:62)。另选地,该信号序列可具有选自表2中所示的信号序列中任一种的对应于由一种或多种眼组织细胞分泌的蛋白质的氨基酸序列。另选地,该信号序列可适于在肌肉或肝脏细胞中表达,诸如下文在表3和表4中所列的那些。

[0289] 除了TNFR 1型结构域的可溶性细胞外蛋白以及包括C_H2和C_H3结构域序列的Fc恒定区之外,转基因还可包含在重链C_H2结构域序列的N端的凝血酶切割位点LVPRGS(SEQ ID NO:8)和铰链区的全部或部分。在具体的实施方案中,Fc结构域具有SEQ ID NO:3的氨基酸序列或具有在N端的铰链区序列,该铰链区序列含有氨基酸序列DKTHTCPPCPAPELLGG(SEQ ID NO:21)的全部或部分,并且具体地为DKTHTCPPCPA(SEQ ID NO:154)、DKTHLCPPCPA(SEQ ID NO:155)、DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFL(SEQ ID NO:152)或DKTHLCPPCPAPELLGGPSVFL(SEQ ID NO:156)。抗TNF α Fc融合蛋白的Fc结构域可具有SEQ ID NO:10的氨基酸序列(表6)。Fc结构域可被工程化以改变与一种或多种Fc受体的结合和/或效应功能,如下文在第5.2.8节中公开。

[0290] EYS606的表达可由组成型或组织特异性启动子指导。在某些实施方案中,转基因含有CAG启动子(SEQ ID NO:51)或GRK1(SEQ ID NO:54)启动子。另选地,启动子可以是组织特异性启动子(或包括启动子和增强子元件的调控序列),诸如GRK1启动子(SEQ ID NO:54或117)、(小鼠视锥阻遏蛋白(CAR)启动子(SEQ ID NO:114-116)、人红视蛋白(Red0)启动子

(SEQ ID NO:112)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161)。转基因可含有表1中提供的元件。编码EYS606的示例性转基因可使用本领域已知的方法来生成。ITR序列被添加到构建体的5'和3'端以生成基因组。转基因可被包装到AAV中,特别是AAV8、AAV3B或AAVrh73中。

[0291] 在某些实施方案中,转基因编码包含TNFR 1型结构域的可溶性细胞外部分的抗TNF α Fc融合蛋白,该融合蛋白包含与SEQ ID NO:1中所示的序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,转基因编码包含Fc结构域的抗TNF α Fc融合蛋白,该融合蛋白包含与SEQ ID NO:6中所示的序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,转基因编码抗TNF α Fc融合蛋白,该融合蛋白包含与SEQ ID NO:12中所示的序列具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%同一性的氨基酸序列。在具体的实施方案中,TNFR1:Fc融合蛋白包含TNFR 1型结构域的可溶性细胞外部分,该可溶性细胞外部分包含具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15个或更多氨基酸取代、插入或缺失的氨基酸序列SEQ ID NO:1,并且进行所述取代、插入或缺失。在具体的实施方案中,TNFR1:Fc融合蛋白包含具有1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15个或更多氨基酸取代、插入或缺失的氨基酸序列SEQ ID NO:12,并且例如在构架区中进行所述取代、插入或缺失。

[0292] 基因疗法方法

[0293] 提供了通过施用含有编码抗TNF α 融合蛋白的转基因的病毒载体来治疗人受试者的非感染性葡萄膜炎的方法。融合蛋白可以是依那西普或EYS606或者它们的生物改良物或生物类似物。在实施方案中,患者已被诊断患有非感染性葡萄膜炎和/或具有与非感染性葡萄膜炎相关的症状。用于递送转基因的重组载体在第5.2节中描述。此类载体应对人眼组织细胞具有嗜性,并且可以包括非复制型rAAV,特别是带有AAV8衣壳、AAV3B衣壳或AAVrh73衣壳的那些。另选地,带有AAV2.7m8或AAV9衣壳的载体可以用于眼部适应症。重组载体(诸如图1中所示的重组载体)可以以使得重组载体进入一种或多种眼组织细胞类型的任何方式(例如,通过将重组载体引入眼睛中)施用。关于有关治疗方法的详细信息参见第5.3节。

[0294] 提供了通过施用含有编码抗TNF α 融合蛋白的转基因的病毒载体来治疗人受试者的非感染性葡萄膜炎的方法。融合蛋白可以是依那西普或EYS606。在实施方案中,患者已被诊断患有非感染性葡萄膜炎和/或具有与非感染性葡萄膜炎相关的症状。用于递送转基因的重组载体在第5.2节中描述,并且示例性转基因在上文中提供。此类载体应对人眼组织细胞具有嗜性,并且可以包括非复制型rAAV,特别是带有AAV3B、AAV8或AAVrh73衣壳的那些。重组载体(诸如图2A和图2B中所示)可以以使得重组载体进入眼组织的任何方式施用。在具体的实施方案中,转基因是AAV8载体中的SEQ ID NO:13-18(参见表7)。

[0295] 施用这种基因疗法的受试者可以是那些对抗TNF α 疗法有反应的那些。在某些实施方案中,所述方法包括治疗已被诊断患有非感染性葡萄膜炎或者具有与其相关的一种或多种症状并且被鉴定为对用抗TNF α 抗体、抗TNF α Fc融合蛋白治疗有反应或者被认为是用抗TNF α 抗体或抗TNF α Fc融合蛋白的疗法的良好候选者的患者。在具体的实施方案中,患者先前已用依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗或戈利木单抗治疗,并且已被发现对依那西普、阿达木单抗、英夫利昔单抗或戈利木单抗有反应。在其他实施方案中,患者先前已用抗

TNF- α 抗体或融合蛋白诸如依那西普、赛妥珠单抗或其他抗TNF- α 剂治疗。为了确定反应性，可将抗TNF α 转基因产物(例如，在细胞培养物、生物反应器等中产生)直接施用于受试者。

[0296] 人翻译后修饰的抗TNF α 融合蛋白

[0297] 产生HuPTM抗TNF α 融合蛋白应产生用于经由基因疗法来完成的治疗非感染性葡萄膜炎的“生物改良物”分子，例如通过将编码抗TNF α HuPTM抗TNF α 融合蛋白的病毒载体或其他DNA表达构建体视网膜下、玻璃体内、鼻内、前房内、脉络膜上腔或全身施用于被诊断患有非感染性葡萄膜炎或者具有非感染性葡萄膜炎的一种或多种症状的人受试者(患者)，以在一种或多种眼组织(或细胞类型)中产生持续供应由转导的眼组织细胞产生的完全人翻译后修饰(例如，人糖基化)的硫酸化转基因产物的永久贮库。

[0298] 在具体的实施方案中，HuPTM抗TNF α 融合蛋白具有TNFR2结构域的可溶性细胞外部分，该可溶性细胞外部分与具有如图2A(天冬酰胺(N)糖基化位点、非共有天冬酰胺(N)糖基化位点；如文字说明所示)中所示的依那西普的氨基酸序列的Fc结构域融合；在图2A中所示的一个或多个氨基酸位置处具有糖基化、特别是2,6-唾液酸化，包括TNFR2结构域(SEQ ID NO:2)的N149或N171和/或Fc结构域(SEQ ID NO:3)的N317；并且/或者在氨基酸位置T8、T184、S199和/或TNFR2结构域(SEQ ID NO:2)的T200和/或铰链区(SEQ ID NO:11)的T245中的一个或多个处具有O-连接的糖基化位点。在其他实施方案中，HuPTM抗TNF α 融合蛋白不含有任何可检测的NeuGc部分和/或不含有任何可检测的 α -Gal部分。

[0299] 在具体的实施方案中，HuPTM抗TNF α 融合蛋白具有TNFR1结构域的可溶性细胞外部分，该可溶性细胞外部分与具有如图2B(天冬酰胺(N)糖基化位点、非共有天冬酰胺(N)糖基化位点；如文字说明所示)中所示的ESY606的氨基酸序列的Fc结构域融合；在如图2B中所示的一个或多个氨基酸位置处具有糖基化、特别是2,6-唾液酸化，包括TNFR1结构域(SEQ ID NO:1)的N54、N94或N145和/或Fc结构域(SEQ ID NO:12)的N294或N358；并且/或者在氨基酸位置T8、T184、S199和/或TNFR2结构域(SEQ ID NO:1)的T200和/或铰链区(SEQ ID NO:12)的T245中的一个或多个处具有O-连接的糖基化位点。在其他实施方案中，HuPTM抗TNF α 融合蛋白不含有任何可检测的NeuGc部分和/或不含有任何可检测的 α -Gal部分。

[0300] 在某些实施方案中，HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白在治疗上有效，并且是至少0.5%、1%或2%糖基化和/或硫酸化的，并且可以是至少5%、10%或甚至50%或100%糖基化和/或硫酸化的。本文提供的基因疗法治疗的目标是减缓或阻止非感染性葡萄膜炎的进展或者缓解非感染性葡萄膜炎的一种或多种症状，诸如减轻患者的疼痛程度、眼睛发红、对光的敏感性和/或其他不适。可通过测量疼痛、眼睛发红和/或畏光的减轻和/或视力的改善来监测功效。

[0301] 本文提供的方法包括将HuPTM抗TNF α Fc融合蛋白递送至眼睛并伴随递送其他可用治疗的组合。附加治疗可在基因疗法治疗之前、与其同时或之后施用。用于患有非感染性葡萄膜炎的受试者的可以与本文提供的基因疗法组合的可用治疗包括但不限于硫唑嘌呤、甲氨蝶呤、霉酚酸酯、环孢菌素、环磷酰胺、皮质类固醇(局部和/或全身)和其他以及与抗TNF α 药剂(包括但不限于依那西普、EYS606、阿达木单抗、英夫利昔单抗或戈利木单抗)一起施用。

[0302] 表6.抗TNF α Fc融合物氨基酸序列

[0303]

结构域	SEQ ID NO.	序列
TNFR1 人 <i>TNFRSF1A</i> 细胞外结构域 , <i>UniProtKB - P19438</i> 氨基酸 1-211	SEQ ID NO: 1	MGLSTVPDLLLPLVLLELLVGIYPSGVIGLVPHLGDREKRDSV CPQGKYIHPQNNSICCTKCHKGTLYNDPCPGPGQDTCRECES GSFTASENHLRHCLSCSKCRKEMGQVEISSCTVDRDTVCGCRK NQYRHYWSENLFQCFNCSLCLNGTVHLSCQEKQNTVCTCHAGF FLRENECVSCSNCKKSLECTKLCLPQIENVKGTEDSGTT
TNFR2 人 <i>TNFRSF1B</i> 细胞外结构域 , <i>UniProtKB - P20333</i> 氨基酸 23-257	SEQ ID NO: 2	LPAQVAFTPY APEPGSTCRL REYYDQTAQM CCSKCSPGQH AKVFCTKTS D TVCDSCEDST YTQLWNWVPE CLSCGSRCSS DQVETQACTR EQNRICTCRP GWYCALSKQE GCRLCAPLRK CRPGFGVARP GTETSDVVCK PCAPGTFSNT TSSTDICRPH QICNVVAIPG NASMDAVCTS TSPTRSMAPG AVHLPQPVST RSQHTQPTPE PSTAPSTSFL LPMGPSPPAE GSTGD

[0304]

结构域	SEQ ID NO.	序列
依那西普:Fc (包括铰链)	SEQ ID NO:3	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVHLQDGLWLN GKEYCKKVS NKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVSFSCSVMEHLHNHYTQKSLSLSPGK
依那西普:Fc (无铰链)	SEQ ID NO: 4	FLFPPKPKDTLMISRTPPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDGLWLN GKEY CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
依那西普:铰链区	SEQ ID NO: 5	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSV
EYS606:Fc (包括铰链)	SEQ ID NO: 6	DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR TPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ YNSTYRVVSVLTVHLQDGLWLN GKEYCKKVS NKALPAPIEKT ISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
EYS606:Fc (无铰链)	SEQ ID NO: 7	FLFPPKPKDTLMISRTPPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDGLWLN GKEY CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTK NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
EYS606: 凝血酶切割位点	SEQ ID NO:8	LVPRGS
EYS606: 铰链区	SEQ ID NO: 9	DKTHTCPPCPAPELLGGPSV
依那西普 TNFR2:Fc 融合物	SEQ ID NO: 10	LPAQVAFTPY APEPGSTCRL REYYDQTAQM CCSKCS PGQH AKVFCTKTS DTVCDSCEDSTYTQLWNWVPE CLSCGSRCS DQVETQACTR EQNRICTRCP GWYCALSKQE GCRLCAPLRK CRPGFGVARP GTETSDVCK PCAPGTFSNT TSSTDICRPH QICNVVAIPG NASMDAVCTS TSPTRSMAPG AVHLFPQPVST RSQHTQPTPE PSTAPSTSFL LPMGPSPPAE GSTGDEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVHL QDGLWLN GKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQG NVSFSCSVMEHLHNHYTQKSLSLSPGK
依那西普加前导序列	SEQ ID NO: 11	MYRQLLLIALSLALVTNS LPAQVAFTPYAPEPGSTCRLREYYDQTAQMCC SKCS PGQHAKVFCTKTS DTVCDSCEDSTYTQLWNWVPECLSCGSRCS SDQVE TQACTREQNRICTRCPGWYCALSKQEGCRLCAPLRKCRPGFGVARPGTETSD VCKPCAPGTFSNTTSSTDICRPHQICNVVAIPGNASMDAVCTSTSPTRSMAPG AVHLFPQPVSTRSQHTQPTPEPSTAPSTSFL LPMGPSPPAE GSTGDEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPPEVT CVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDGLWLN GKEYCKVSN KALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFCSVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK 前导序列以粗体显示。TNFR 结构域加下划线。铰

[0305]

结构域	SEQ ID NO.	序列
		链区以斜体显示，并且 Fc 结构域以灰色突出显示。
EYS606	SEQ ID NO:12	MGLSTVPDLLLPLVLLELLVGIYPSGVIGLPHLGDREKRDVSCPQGYIHP QNNISICCTKCHKGTLYLNDPCPGQDTCRECESGSFTASENHLRHCLSCSK CRKEMGQVEISSCTVDRDTVCGCRKNQYRHYWSENLFQCFNCSLCLNGTVHL SCQEKQNTVCTCHAGFFLRENECVSCSNCKKSELECTKLCLPQIENVKGTEDS GTTLVPRGS<i>DKTHTCPPCPAPELLGGPSVTLFPPKPKD</i>TL<i>MI</i>SR<i>TE</i>VT<i>CVV</i> VDVSHEDFEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL LVKGFFYPDSIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS 凝血酶切割位点加粗/加下划线。铰链区以斜体显示，并且 Fc 结构域以灰色突出显示。

[0306] 表7. 抗TNF α Fc融合物核苷酸序列

[0307]

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
依那西普	SEQ ID NO: 13	CTGCGCTGCACAGGTGGCTTTTACCCCATATGCTCCTGAGCCTGGATCCACTTGTAGGC TGAGGGAGTATTATGATCAGACAGCCAGATGTGCTGTTCAAATGTTCCCTCGGACA GCATGCTAAGGTGTTTGTACCAAGACAAGTGACACTGTCTGTGACAGCTGTGAGGAT TCTACTTACACCCAGCTGTGGAATTGGGTGCCAGAATGTCTGTCTATGTGGGAGCAGGT GTTCTAGTGACCAAGTGGAAACTCAGGCCCTGTACAAGAGAGCAGAACAGGATTGTAC ATGTAGACCAAGGTGGTACTGTGCCCTGAGCAAACAGGAAGGGTGTAGGCTCTGTGCT CCCTCGAGGAATGTAGACCTGGGTTTGGGGTGGCCAGACAGGAAACAGAACTTCTG ATGTGGTCTGTAAAGCCTGTGCACAGGAACCTTTCAAACACTACCAGCAGTACAGA CATCTGCAGACCCATCAGATCTGTAATGTGGTGCCATTCTCTGGGAATGCAGATATG GATGCTGTCTGTACTTCCACAGCCCACTAGATCCATGGCCCCAGGGGCACTCCACC TGCCCCAGCCTGTACGCACTAGAAGCCAGCATACTCAGCCACACCTGAGCCTTCTAC AGCACCTCCACCTCTTTCCTGTCTGCTATGGGGCCATCAGCTCCAGCTGAGGGGAGT ACAGGGGATGAACCTAAGTCATGTGACAAAACCCATACTGTCCACCTGCCCCCTGCTC CTGAGCTGCTGGGGGACCCAGTGTCTCTCTTCTCCCAAACCTAAAGATACTCT GATGATCAGCAGAACCCAGAGGTCACATGCGTGGTAGTGGATGTCTCCATGAAGAC CCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTATGTAGATGGGGTGGAGGTCATAATGCAAGACCA AGCCCAGGGGAAGACAGTATAACAGTACTTACAGGGTGGTGTCTGTCTGACAGTACT GCACAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGCAAGTCAGCAATAAGGCACTG CCTGCCCTATTGAAAAGACAATTAGTAAAGCTAAGGGGCAGCCAGGGGAACACAGG TCTACACTCTGCCCCCTAGTAGAGAGGAAATGACAAAGATCAGGTCAGTCTGACATG TCTGTCAAGGGATTCTATCCAAGTGATATTGCAGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAG CCAGAGAATAACTACAAGACTACCCCCCAGTGCTGGACAGTGATGGATCTTTCTTTCT TGTACTCCAACTGACTGTGGATAAATCAAGATGGCAGCAGGGCAATGTCTTTTCTCTG TTCACTCATGCATGAAGCCCTGCATAATCACTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCC CCTGGCAATGA TNFR2 结构域以灰色突出显示。铰链区以斜体显示。
依那西普加前导序列	SEQ ID NO: 14	ATGTATAGGATGCACTGCTGCTGCTGATTGCTCTGAGTCTGGCTCTGGTCACAAATA GTCTGCCTGCACAGGTGGCTTTTACCCCATATGCTCCTGAGCCTGGATCCACTTGTAG GCTGAGGGAGTATTATGATCAGACAGCCAGATGTGCTGTTCAAATGTTCCCTCGGA CAGCATGCTAAGGTGTTTGTACCAAGACAAGTGACACTGTCTGTGACAGCTGTGAGG ATTCTACTTACACCCAGCTGTGGAATTGGGTGCCAGAATGTCTGTCTATGTGGGAGCAG GTGTTCTAGTGACCAAGTGGAAACTCAGGCCCTGTACAAGAGAGCAGAACAGGATTTGT ACATGTAGACCAAGGTGGTACTGTGCCCTGAGCAAACAGGAAGGGTGTAGGCTCTGTG CTCCCCTGAGGAATGTAGACCTGGGTTTGGGGTGGCCAGACAGGAACAGAACTTC TGATGTGCTCTGAAGCCCTGTGCACAGGAACCTTTCAAACACTACCAGCAGTACA GACATCTGCAGACCCATCAGATCTGTAATGTGGTGGCCATTCTCTGGGAATGCAAGTA TGGATGCTGTCTGTACTTCCACAGCCCACTAGATCCATGGCCCCAGGGGCACTCCA CCTGCCCCAGCCTGTGACCACTAGAAGCCAGCATACTCAGCCACACCTGAGCCTTCT ACAGCACCTCCACCTCTTCTCTGCTGCTATGGGGCCATCAGCTCCAGCTGAGGGCA GTACAGGGGATGAACCTAAGTCATGTGACAAAACCCATACTGTCCACCTGCCCTGC TCCTGAGCTGCTGGGGGACCCAGGTGCTTCTCTGTTTCTCCCAAACCTAAAGATACT CTGATGATCAGCAGAACCCAGAGGTACATGCGTGGTAGTGGATGTCTCTCCATGAAG ACCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTATGTAGATGGGGTGGAGGTCATAATGCAAGAC CAAGCCCAGGGGAAGACAGTATAACAGTACTTACAGGGTGGTGTCTGTCTGACAGTA CTGCACCAAGGACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGCAAGTCAGCAATAAGGCAC TGCTTCCCCCTATTGAAAAGACAATTAGTAAAGCTAAGGGGCAGCCAGGGGAACACAG GGCTACACTCTGCCCTAGTAGAGAGGAAATGACAAAGATCAGGTCAGTCTGACAT TGTCTGGTCAAGGGATTCTATCCAAGTGATATTGCAGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCC AGCCAGAGAATAACTACAAGACTACCCCCCAGTGCTGGACAGTGATGGATCTTTCTTT TCTGTACTCCAACTGACTGTGGATAAATCAAGATGGCAGCAGGGCAATGTCTTTTCTC TGTTCACTCATGCATGAAGCCCTGCATAATCACTACACTCAGAAGAGCCTGTCCCTGT CCCCTGCAATGA 前导序列以粗体显示
pAAV.CAG.	SEQ ID NO:15	ctgcgcgctcgtcgcctcactgaggccgcccgggcaagcccgggcg tcgggcgaccttggcgccccggcctcagtgcgagcgagcgagcgcgca

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
依那西普 (从 5'-ITR 到 3'-ITR)		gagagggagtgcccaactccatcactaggggttccttgtagttaatgatt aaccgccatgctacttatctaccagggtaatggggatcctctagaactat agctagtcgacattgattattgactagttattaatagtaataacattacgggggt cattagttcatagcccatatatggagttccgcgttacataacttacggtaaa tggccgcctggctgaccgccaacgacccccgccattgacgtcaat aatgacgtatgtcccatagtaacgccaatagggactttccattgacgtca atgggtggagatttacggtaaactgccacttggcagtagacatcaagtgtat tcatatgccaagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggcccg cctggcattatgccagtagacgttatgggactttcctacttggcagta catctacgtattatgcatcgtattaccatggtcaggtgagccccacgtt ctgcttcactctccccatctccccccctccccaccccccaattttgtatttatt tatttttaattattttgtgcagcgatggggggcggggggggggggggggggc gcgcgccaggcggggcggggcggggcggggcggggcggggcggggc gaggcggagaggtgcgccggcagccaatcagagcggcgcgctccga aagtttctttatggcgaggcggcggcgggcgccctataaaaagc gaagcgcgcggcggcgggagtcgctgcgcgtgccttcgccccgtg ccccgctccgcccgccctcgcgcggccgccccggctctgactgacc gcgttactccacaggtgagcggcgggacggcccttctcctccgggc tgttaattagcgttggttaatgacggcttgttctttctgtggctgcgtgaa agccttgaggggctccgggagggcccttgtgcgggggagcgggtc gggggggtgcgtgcgtgtgtgtgcgtggggagcggcgctgcggct ccgcgctgccggcggtgtgagcgtgcggcgcgggcgcggggct ttgtgcgtccgcagtgtgcgcgaggggagcgcggccggggcggtg ccccgcgggtcggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcg gggtgtgtgcgtgggggggtgagcaggggggtggggcgctcggtcg ggctgcaacccccctgcacccccctccccagttgctgagcacggcc cggcttcgggtgcggggctccgtacggggcgtggcgcggggctcgc gtgccggcggggggtggcggcaggtgggggtgccggcgggggcg gggcccctcggggccggggagggctcgggggagggcgcgggcg ccccggagcgccggcggtgtcagggcgcgggcgagccgagccat tgcttttatgtaatcgtgcgagagggcgagggacttctttgtccaa atctgtcggagccgaaatctgggagggcgcccgccacccccctagc gggcgcggggcgaaagcgggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggc ggggagggccttcgtgcgtcgcgcggccgctcccttctccctctcc agcctcgggggtgtccgcggggggacggctgccttcgggggggacg gggcagggcggggttcggcttctggcgtgtgaccggcggtctagagc ctctgtaaccatgttcattgccttcttcttttctacagctcctgggcaacgt gctggtattgtgctgtctcatcattttggcaaagAATTCGCCAC CATGTATAGGATGCAGCTGCTGCTGCTGATT GCTCTGAGTCTGGCTCTGGTCACAAATAGTC TGCCTGCACAGGTGGCTTTTACCCCATATGC TCCTGAGCCTGGATCCACTTGTAGGCTGAGG GAGTATTATGATCAGACAGCCAGATGTGC TGTTCAAAATGTTCCCCTGGACAGCATGCTA AGGTGTTTTGTACCAAGACAAGTGACACTGT CTGTGACAGCTGTGAGGATTCTACTTACACC CAGCTGTGGAATTGGGTGCCAGAATGTCTGT CATGTGGGAGCAGGTGTTCTAGTGACCAGG TGGAAACTCAGGCCTGTACAAGAGAGCAGA

[0308]

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
		ACAGGATTTGTACATGTAGACCAGGGTGGT ACTGTGCCCTGAGCAAACAGGAAGGGTGT GGCTCTGTGCTCCCCTGAGGAAATGTAGACC TGGGTTTGGGGTGGCCAGACCAGGAACAGA AACTTCTGATGTGGTCTGTAAGCCCTGTGCA CCAGGAACCTTTTCAAACACTACCAGCAGT ACAGACATCTGCAGACCCCATCAGATCTGT AATGTGGTGGCCATTCTGGGAATGCAAGT ATGGATGCTGTCTGTACTTCCACCAGCCCCA CTAGATCCATGGCCCCAGGGGCAGTCCACC TGCCCCAGCCTGTCAGCACTAGAAGCCAGC ATACTCAGCCCACACCTGAGCCTTCTACAGC ACCCTCCACCTCTTTCCTGCTGCCTATGGGG CCATCACCTCCAGCTGAGGGCAGTACAGGG GATGAACCTAAGTCATGTGACAAAACCCAT ACCTGTCCACCCTGCCCTGCTCCTGAGCTGC TGGGGGGACCCAGTGTCTTCCTGTTTCCTCC CAAACCTAAAGATACTCTGATGATCAGCAG AACCCAGAGGTCACATGCGTGGTAGTGGA TGTCTCCCATGAAGACCCTGAAGTGAAGTTT AATTGGTATGTAGATGGGGTGGAGGTCCAT AATGCAAAGACCAAGCCCAGGGAAGAACA GTATAACAGTACTTACAGGGTGGTGTCTGTG CTGACAGTACTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGGAAGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGCAAT AAGGCACTGCCTGCCCTATTGAAAAGACA ATTAGTAAAGCTAAGGGGCAGCCCAGGGAA CCACAGGTCTACACTCTGCCCCCTAGTAGAG AGGAAATGACAAAGAATCAGGTCAGTCTGA CATGTCTGGTCAAGGGATTCTATCCAAGTGA TATTGCAGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCA GCCAGAGAATAACTACAAGACTACCCCCC AGTGCTGGACAGTGATGGATCTTTCTTTCTG TACTCCAACTGACTGTGGATAAATCAAGA TGGCAGCAGGGCAATGTCTTTTCCTGTTTCA TCATGCATGAAGCCCTGCATAATCACTACAC TCAGAAGAGCCTGTCCCTGTCCCCTGGCAAA TGATAACtcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatctt ttccctctgccaaaattatggggacatcatgaagcccttgagcatctg acttctggctaataaaggaaatttatttcattgcaatagtgtgtggaatttt tgtgtctctcactcggaagcaatcggtgatctgaatttcgaccaccataa taccattaccctggtagataagtagcatggcggttaatacttaactaca aggaaccctagtgtgatggagtggccactccctctctgcgcgctcgtcgc ctcactgaggccgggcgaccaaaggcgcgcgacgcccgggcttgc cgggcgggcctcagtgagcgagcgagcgcgag
pAAV.CAG. 依那西普 (从启动子	SEQ ID NO: 16	acattgattattgactagttaattaatgtaataatcacggggtcattagtcca tagcccatatatggagttccgcgttacataaacttacggtaaatggcccgcc tggtgaccgcccacgacccccgccattgacgtcaataatgacgtat gttcccatagtaacgcaatagggacttccattgacgtcaatgggtgga

[0310]

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
到 <i>polyA</i>)		gtatttacggtaaactgccacttggcagtacatcaagtgtatcatatgcca agtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaattggccgcctggcatta tggccagtacatgacctatgggactttctacttggcagtacatctacgta ttagtcatcgctattacatggctcgaggtgagcccccagttctgcttcactc tccccatctccccccctccccaccccaatttgtatttattttttaatta ttttgtgcagcgcgatggggggcggggggggggggggggcgcgcgccag gcggggcgggggcgggggcgagggggcgggggcgagggcgag aggtgcggcggcagccaatcagagcgggcgcgctccgaaagttcctttt atggcgagggcgggcgggcgggcgggccctataaaaagcgaagcgcg ggcggggcgggagtcgctgcgcgctgccttcgccccgtccccgtcc gccggcgctcgcggcgccgccccggctctgactgaccggttactc ccacaggtgagcggggcgggacggcccttctcctcgggctgtaattag cgcttggttaatgacggcttgtttctttctgtggctgcgtgaaagcctga ggggctccgggagggcccttgtgcgggggagcggctcgggggggt gcgtgcgtgtgtgtgcgtggggagcgccgcgtgcggctccgcgctg cccggcggtgtgagcgtgcggcgcgggcggggcttgtgcgct ccgcagtgtgcgcgaggggagcgcgccggggcgggcggtgcccgcg gtgcggggggggctgcgaggggaacaaaggctgcgtgcggggtgtg tgcgtgggggggtgagcagggggtgtgggcgcgtcggtcgggctgca accccccctgcacccccctccccgagttgctgagcacggccccgcttc ggggtgcggggctccgtacggggcggtggcgcggggctcgccgtgccg ggcggggggtggcggcaggtgggggtgccggcgggggcgggggcc gcctcggggccgggagggctcgggggaggggcgcggcgggcccccg gagcgccggcggtgtcgagggcgggcgagccgcagccattgcctttt atggaatcgtgcgagaggcgagggacttcttgtcccaaatctgtg cggagccgaaatctgggagggcgccgccgcacccctctagcggggcg ggggcgaagcgggtgcggcgccggcaggaaggaaatgggcggggag ggcttcgtgcgtgcggcgccgctcccccttctccctcagcctcg gggctgtccgcggggggacggctgccttcgggggggacggggcagg gcgggggttcggcttctggcgtgtgaccggcggtctagagcctctgcta accatgttcattgccttcttcttttctacagctcctgggcaacgtgctggt attgtgtgtctcatcttttggcaaagAATTCGCCACCATGT ATAGGATGCAGCTGCTGCTGCTGATTGCTCT GAGTCTGGCTCTGGTCACAAATAGTCTGCCT GCACAGGTGGCTTTTACCCCATATGCTCCTG AGCCTGGATCCACTTGTAGGCTGAGGGAGT ATTATGATCAGACAGCCCAGATGTGCTGTTC AAAATGTTCCCCTGGACAGCATGCTAAGGT GTTTTGTACCAAGACAAGTGACACTGTCTGT GACAGCTGTGAGGATTCTACTTACACCCAGC TGTGGAATTGGGTGCCAGAATGTCTGTCTATG TGGGAGCAGGTGTTCTAGTGACCAGGTGGA AACTCAGGCCTGTACAAGAGAGCAGAACAG GATTTGTACATGTAGACCAGGGTGGTACTGT GCCCTGAGCAAACAGGAAGGGTGTAGGCTC TGTGCTCCCCTGAGGAAATGTAGACCTGGGT TTGGGGTGGCCAGACCAGGAACAGAACTT CTGATGTGGTCTGTAAGCCCTGTGCACCAGG AACCTTTTCAAACACTACCAGCAGTACAGA

[0311]

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
		CATCTGCAGACCCCATCAGATCTGTAATGTG GTGGCCATTCTGGAATGCAAGTATGGAT GCTGTCTGTACTTCCACCAGCCCACTAGAT CCATGGCCCCAGGGGCAGTCCACCTGCCCC AGCCTGTCAGCACTAGAAGCCAGCATACTC AGCCCACACCTGAGCCTTCTACAGCACCCCTC CACCTCTTTCCTGCTGCCTATGGGGCCATCA CCTCCAGCTGAGGGCAGTACAGGGGATGAA CCTAAGTCATGTGACAAAACCCATACCTGTC CACCCTGCCCTGCTCCTGAGCTGCTGGGGGG ACCCAGTGTCTTCTGTTTCTCCCAAACCT AAAGATACTCTGATGATCAGCAGAACCCCA GAGGTCACATGCGTGGTAGTGGATGTCTCCC ATGAAGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGT ATGTAGATGGGGTGGAGGTCCATAATGCAA AGACCAAGCCCAGGGAAGAACAGTATAACA GTACTTACAGGGTGGTGTCTGTGCTGACAGT ACTGCACCAGGACTGGCTGAATGGGAAGGA GTATAAGTGCAAAGTCAGCAATAAGGCACT GCCTGCCCCCTATTGAAAAGACAATTAGTAA AGCTAAGGGGCAGCCCAGGGAACACAGGT CTACACTCTGCCCCCTAGTAGAGAGGAAAT GACAAAGAATCAGGTCAGTCTGACATGTCT GGTCAAGGGATTCTATCCAAGTGATATTGCA GTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCAGAG AATAACTACAAGACTACCCCCCAGTGCTG GACAGTGATGGATCTTTCTTTCTGTACTCCA AACTGACTGTGGATAAATCAAGATGGCAGC AGGGCAATGTCTTTTCTGTTTCAGTCATGCA TGAAGCCCTGCATAATCACTACACTCAGAA GAGCCTGTCCCTGTCCCCTGGCAAATGATAA Ctcgaggacggggtgaactacgcctgaggatccgatctttccctctgc caaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgactctggcta ataaaggaaatttatcttcattgcaatagtggttggaatttttgtgtctctca ctcg
pAAV.sc.mU 1a.Vh4i. 依 那西普 (从 5'-ITR 到 3'-ITR) (2259 bp)	SEQ ID NO: 17	ctgcgcgctcgtcgtcactgaggccgcccgggcaaagcccgggcg tcgggcgacctttggtcgcccgccctcagtgagcgagcgagcgcgca gagagggagtgggaattcaCGCGTATGGAGGCGGTACT ATGTAGATGAGAATTCAGGAGCAAACCTGGG AAAAGCAACTGCTTCCAAATATTTGTGATTT TTACAGTGTAGTTTTGGAAAACTCTTAGCC TACCAATTCTTCTAAGTGTTTTAAAATGTGG GAGCCAGTACACATGAAGTTATAGAGTGTT TTAATGAGGCTTAAATATTTACCGTAACTAT GAAATGCTACGCATATCATGCTGTTTCAGGCT CCGTGGCCACGCAACTCATACTCAGGTGAG TATCTCAGGGATCCAGACATGGGGATATGG GAGGTGCCTCTGATCCCAGGGCTCACTGTGG GTCTCTCTGTTACAGGTTAccggtGCCACCAT

[0312]

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
		GTATAGGATGCAGCTGCTGCTGCTGATTGCT CTGAGTCTGGCTCTGGTCACAAATAGTCTGC CTGCACAGGTGGCTTTTACCCCATATGCTCC TGAGCCTGGATCCACTTGTAGGCTGAGGGA GTATTATGATCAGACAGCCCAGATGTGCTGT TCAAAATGTTCCCCTGGACAGCATGCTAAG GTGTTTTGTACCAAGACAAGTGACACTGTCT GTGACAGCTGTGAGGATTCTACTTACACCCA GCTGTGGAATTGGGTGCCAGAATGTCTGTCA TGTGGGAGCAGGTGTTCTAGTGACCAGGTG GAAACTCAGGCCTGTACAAGAGAGCAGAAC AGGATTTGTACATGTAGACCAGGGTGGTAC TGTGCCCTGAGCAAACAGGAAGGGTGTAGG CTCTGTGCTCCCCTGAGGAAATGTAGACCTG GGTTTGGGGTGGCCAGACCAGGAACAGAAA CTTCTGATGTGGTCTGTAAGCCCTGTGCACC AGGAACCTTTTCAAACACTACCAGCAGTAC AGACATCTGCAGACCCCATCAGATCTGTAAT GTGGTGGCCATTCTTGGGAATGCAAGTATG GATGCTGTCTGTACTTCCACCAGCCCAACTA GATCCATGGCCCCAGGGGCAGTCCACCTGC CCCAGCCTGTCAGCACTAGAAGCCAGCATA CTCAGCCCACACCTGAGCCTTCTACAGCACC CTCCACCTCTTTCCTGCTGCCTATGGGGCCA TCACCTCCAGCTGAGGGCAGTACAGGGGAT GAACCTAAGTCATGTGACAAAACCCATACC TGTCCACCCTGCCCTGCTCCTGAGCTGCTGG GGGGACCCAGTGTCTTCCTGTTTCCTCCCAA ACCTAAAGATACTCTGATGATCAGCAGAAC CCCAGAGGTCACATGCGTGGTAGTGGATGT CTCCCATGAAGACCCTGAAGTGAAGTTTAAT TGGTATGTAGATGGGGTGGAGGTCCATAAT GCAAAGACCAAGCCCAGGGAAGAACAGTAT AACAGTACTTACAGGGTGGTGTCTGTGCTGA CAGTACTGCACCAGGACTGGCTGAATGGGA AGGAGTATAAGTGCAAAGTCAGCAATAAGG CACTGCCTGCCCCTATTGAAAAGACAATTAG TAAAGCTAAGGGGCAGCCCAGGGAACCACA GGTCTACACTCTGCCCCCTAGTAGAGAGGA AATGACAAAGAATCAGGTCAGTCTGACATG TCTGGTCAAGGGATTCTATCCAAGTGATATT GCAGTGGAGTGGGAAAGTAATGGCCAGCCA GAGAATAACTACAAGACTACCCCCCAGTG CTGGACAGTGATGGATCTTTCTTTCTGTACT CCAAAGTACTGTGGATAAATCAAGATGGC AGCAGGGCAATGTCTTTTCCTGTTCAAGTCAT GCATGAAGCCCTGCATAATCACTACACTCA GAAGAGCCTGTCCCTGTCCCCTGGCAAATG ATAAGccttgatcttttccctctgccaaaattatggggacatcatga

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
		agccccttgagcatctgacttctggctaataaaggaaatttatttcattgca atagtgtgttggaattttgtgtctctcactcggctagcgaagcaattctag caggcatgctggggagagatcgatctgaggaaccctagtgtgaggtt ggccactccctctctgcgcgctcgctcactgaggccgccgggc aaagcccgggcgctgggcgaccttggctcgccggcctcagtgagcga gcgagcgcgcagagagggagtgggcaa
pAAV.sc.mU 1a.Vh4i. 依 那西普 (启动子到 polyA) (1951 bp)	SEQ ID NO: 18	ATGGAGGCGGTACTATGTAGATGAGAATTC AGGAGCAAACCTGGGAAAAGCAACTGCTTCC AAATATTTGTGATTTTACAGTGTAGTTTGTG GAAAAACTCTTAGCCTACCAATTCTTCTAAG TGTTTTAAATGTGGGAGCCAGTACACATG AAGTTATAGAGTGTTTTAATGAGGCTTAAAT ATTTACCGTAACTATGAAATGCTACGCATAT CATGCTGTTCAGGCTCCGTGGCCACGCAACT CATACTCAGGTGAGTATCTCAGGGATCCAG ACATGGGGATATGGGAGGTGCCTCTGATCC CAGGGCTCACTGTGGGTCTCTCTGTTCACAG GTTAccggtGCCACCATGTATAGGATGCAGCT GCTGCTGCTGATTGCTCTGAGTCTGGCTCTG GTCACAAATAGTCTGCCTGCACAGGTGGCTT TTACCCCATATGCTCCTGAGCCTGGATCCAC TTGTAGGCTGAGGGAGTATTATGATCAGAC AGCCCAGATGTGCTGTTCAAAATGTTCCCCT GGACAGCATGCTAAGGTGTTTTGTACCAAG ACAAGTGACACTGTCTGTGACAGCTGTGAG GATTCTACTTACACCCAGCTGTGGAATTGGG TGCCAGAATGTCTGTCTATGTGGGAGCAGGT GTTCTAGTGACCAGGTGGAACTCAGGCCT GTACAAGAGAGCAGAACAGGATTTGTACAT GTAGACCAGGGTGGTACTGTGCCCTGAGCA AACAGGAAGGGTGTAGGCTCTGTGCTCCCC TGAGGAAATGTAGACCTGGGTTTGGGGTGG CCAGACCAGGAACAGAACTTCTGATGTGG TCTGTAAGCCCTGTGCACCAGGAACCTTTTC AAACACTACCAGCAGTACAGACATCTGCAG ACCCCATCAGATCTGTAATGTGGTGGCCATT CCTGGGAATGCAAGTATGGATGCTGTCTGTA CTTCCACCAGCCCACTAGATCCATGGCCCC AGGGGCAGTCCACCTGCCCCAGCCTGTGAG CACTAGAAGCCAGCATACTCAGCCCACACC TGAGCCTTCTACAGCACCTCCACCTCTTTC CTGCTGCCTATGGGGCCATCACCTCCAGCTG AGGGCAGTACAGGGGATGAACCTAAGTCAT GTGACAAAACCCATACCTGTCCACCCTGCCC TGCTCCTGAGCTGCTGGGGGGACCCAGTGTC TTCCTGTTTCTCCCAAACCTAAAGATACTC TGATGATCAGCAGAACCCAGAGGTCACAT GCGTGGTAGTGGATGTCTCCCATGAAGACC CTGAAGTGAAGTTTAATTGGTATGTAGATGG

[0313]

蛋白质	SEQ ID NO.	序列
[0314]		GGTGGAGGTCCATAATGCAAAGACCAAGCC CAGGGAAGAACAGTATAACAGTACTTACAG GGTGGTGTCTGTGCTGACAGTACTGCACCAG GACTGGCTGAATGGGAAGGAGTATAAGTGC AAAGTCAGCAATAAGGCACTGCCTGCCCCCT ATTGAAAAGACAATTAGTAAAGCTAAGGGG CAGCCCAGGGAACACAGGTCTACACTCTG CCCCCTAGTAGAGAGGAAATGACAAAGAAT CAGGTCAGTCTGACATGTCTGGTCAAGGGA TTCTATCCAAGTGATATTGCAGTGGAGTGGG AAAGTAATGGCCAGCCAGAGAATAACTACA AGACTACCCCCCAGTGCTGGACAGTGATG GATCTTTCTTTCTGTACTCCAACTGACTGT GGATAAATCAAGATGGCAGCAGGGCAATGT CTTTTCCTGTTCAAGTCATGCATGAAGCCCTG CATAATCACTACACTCAGAAGAGCCTGTCCC TGTCCCCTGGCAAATGATAAaagcttgatcttttcctc tgccaaaattatggggacatcatgaagccccttgagcatctgacttctgg ctaataaaggaaattattttcattgcaatagtgtgttgaatttttgtgtctc cactcg

[0315] 5.6抗TNF α Fc融合蛋白的剂量施用

[0316] 任何这种重组载体的治疗有效剂量应以使得重组载体进入眼组织细胞(例如,视网膜细胞)的任何方式(例如,通过将重组载体引入血流中)施用。另选的,可将载体直接施用于眼睛,例如经由视网膜下、玻璃体内、前房内、脉络膜上腔注射。在具体的实施方案中,视网膜下、玻璃体内、前房内、脉络膜上腔、皮下、肌内或静脉内施用载体。视网膜下、玻璃体内、前房内或脉络膜上腔施用应使得可溶性转基因产物在以下视网膜细胞类型中的一种或多种中表达:人光感受器细胞(视锥细胞、视杆细胞);水平细胞;双极细胞;无长突细胞;视网膜神经节细胞(侏儒细胞、伞状细胞、双层细胞、巨视网膜神经节细胞、光敏神经节细胞和米勒神经胶质细胞);以及视网膜色素上皮细胞或其他眼组织细胞:角膜细胞、虹膜细胞、睫状体细胞、施莱姆氏管细胞、小梁网细胞、RPE-脉络膜组织细胞或视神经细胞。

[0317] 转基因产物的表达使得转基因产物在一种或多种眼组织或者眼组织细胞类型(例如,视网膜细胞)中递送和维持。适用于施用的药物组合物包含重组载体在包含生理学上相容的水性缓冲液的配制缓冲液中的悬浮液,该重组载体包含编码抗TNF α Fc融合蛋白的转基因。配制缓冲液可以包含多糖、表面活性剂、聚合物或油中的一种或多种。

[0318] 另选地,将编码抗TNF α Fc融合物的重组载体递送至肝脏,并且抗TNF α Fc融合物被表达并分泌到循环中。在具体的实施方案中,包含编码依那西普Fc融合蛋白的转基因的载体的施用剂量和途径应使得依那西普Fc融合蛋白表达,这实现和维持依那西普融合蛋白的玻璃体内浓度与通过每月以40mg的剂量注射依那西普(Amgen)所实现的玻璃体内浓度的水平等效。

[0319] 5.7功效监测

[0320] 可使用用于评估治疗、预防或改善NIU的功效的任何方法来评估本文所述的组合物和方法的功效。评估可在动物模型或人受试者中确定。可通过最佳矫正视力(BCVA)来测

量对视力缺陷的功效,例如,评估字母或行的数量的增加,并且其中功效可被评估为增加大于或等于2个ETDRS行或者增加logMAR、根据SUN分类降低前房和后房的炎性活性以及/或者降低玻璃体混浊的等级。可使用本领域已知的方法通过光学相干断层扫描来测量眼睛的物理变化。

[0321] 可使用用于评估治疗、预防或改善NIU的功效的任何方法来评估本文所述的组合物和 method 的功效。评估可在动物模型或人受试者中确定。可通过最佳矫正视力(BCVA)来测量对视力缺陷的功效,例如,评估字母或行的数量的增加,并且其中功效可被评估为增加大于或等于2个ETDRS行或者增加logMAR、根据SUN分类降低前房和后房的炎性活性以及/或者降低玻璃体混浊的等级。可使用本领域已知的方法通过光学相干断层扫描来测量眼睛的物理变化。可通过确定突发和/或复发率、前房细胞、玻璃体细胞和玻璃体混浊等级(例如,等级 $\leq 0.5+$)和/或活动性视网膜或脉络膜(炎性)病变的数量来进一步监测功效(例如参见J.S.等人,Int Ophthalmol Clin.2015Summer;55(3):79-110或Rosenbaum J.T.等人,第49卷,第3期,2019年12月,第438-445页;这些文献以引用的方式整体并入本文)。

[0322] 终点可包括但不限于研究眼睛中的玻璃体混浊等级从基线到12、16、20、24或28周或抢救时(如果更早)的平均变化;在12、16、20、24或28周时研究眼睛中没有复发活动性中间葡萄膜炎、后葡萄膜炎或全葡萄膜炎的反应者的比例;最佳矫正视力从基线到12、16、20、24或28周的平均变化;生活质量/患者报告的结果评估相对于基线的变化;玻璃体混浊等级和前房细胞等级从基线到12、16、20、24或28周的平均变化;或者免疫抑制药物评分从基线到12、16、20、24或28周的变化。

[0323] 6. 实施例

[0324] 6.1 实施例1:基于依那西普cDNA的载体

[0325] 构建了基于依那西普cDNA的载体,其包含含有编码TNFR:Fc融合物依那西普(氨基酸序列为SEQ ID NO:10或11)的核苷酸序列的转基因。核苷酸序列是SEQ ID NO:13或14的核苷酸序列。转基因还包括编码信号肽(例如,MYRMLLLLIALLSLALVTNS(SEQ ID NO:62))的核苷酸序列。关于转基因产物的氨基酸序列参见图2A。该载体另外包括组成型启动子,诸如CAG和mU1a,并且可以包括另选启动子,诸如EF1a或CB7或CB(SEQ ID NO:159)或CB长(SEQ ID NO:160)启动子或者组织特异性启动子(诸如眼组织特异性启动子,特别是GRK1启动子(SEQ ID NO:54)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161))或诱导型启动子(诸如缺氧诱导型启动子)。

[0326] 6.2 实施例2:基于EYS060 cDNA的载体

[0327] 构建了基于EYS060 cDNA的载体,其包含含有编码TNFR:Fc融合物EYS060(氨基酸序列为SEQ ID NO:12)的核苷酸序列的转基因。转基因还包含编码信号肽(例如,MYRMLLLLIALLSLALVTNS(SEQ ID NO:62))的核苷酸序列。关于转基因产物的氨基酸序列参见图2B。该载体另外包括组成型启动子,诸如CAG、mU1a,并且可以包括另选启动子,诸如EF1a或CB7或CB(SEQ ID NO:159)或CB长(SEQ ID NO:160)启动子或者组织特异性启动子(诸如眼组织特异性启动子,特别是GRK1启动子(SEQ ID NO:54)或Best1/GRK启动子(SEQ ID NO:161))或诱导型启动子(诸如缺氧诱导型启动子)。

[0328] 6.3 实施例3:TNF α 与载体化阿达木单抗IgG和Fab以及载体化依那西普的跨模型物种结合

[0329] A.测试了从包括人、小鼠和大鼠在内的模型物种中分离的载体化阿达木单抗候选物对TNF α 的结合能力。在顺式质粒转染到293T细胞后,载体化抗体被表达并分泌到细胞上清液中。在ELISA中测试细胞上清液,其中用来源于上述物种的重组TNF α 包被板(图5A)。阿达木单抗IgG有效结合人和小鼠来源的TNF α 。Fab展示出与人TNF α 的结合特征与IgG相似。然而,与阿达木单抗IgG相比,Fab显示出与小鼠TNF α 的结合较差。IgG和Fab都显示出与大鼠TNF α 的结合大大降低。

[0330] B.以相同方式测定载体化依那西普与人、小鼠和大鼠TNF α 的结合。依那西普结合人、小鼠和大鼠来源的TNF α 中的全部,并且比阿达木单抗更好地结合大鼠TNF α 。参见图5B。

[0331] 6.4实施例4:AAV介导的非感染性后葡萄膜炎的眼部基因疗法

[0332] 非感染性后葡萄膜炎是一种形式的眼部炎症,会影响眼睛的视网膜和脉络膜并导致失明。它每年折磨着大约38,000名美国人。患者通常用全身性类固醇或皮质类固醇疗法进行治疗,这导致全身并发症的风险很高。2016年,修美乐(阿达木单抗)(一种靶向肿瘤坏死因子 α (TNF α)的人单克隆抗体)获得FDA批准,成为用于治疗非感染性葡萄膜炎(NIU)的唯一全身性非皮质类固醇剂,并且从那时起被广泛使用。在本研究中,将经由局部施用评价载体化抗TNF α Fc融合蛋白包括CAG.依那西普或mU1a.Vh4i.依那西普.scAAV或载体化EYS606,以及AAV8.CAG.GFP在小鼠眼组织中的体内AAV介导的抗TNF α Fc融合蛋白表达。AAV8.NUL将用作对照载体。还将在啮齿动物EAU模型中进行功效研究,以探究AAV介导的抗TNF α 治疗对NIU的治疗潜力。

[0333] 将在体外构建和测试载体化依那西普和EYS606序列。将进一步评价野生型小鼠的转导效率和细胞类型特异性。年轻的成年C57BL/6和B10.RIII小鼠(8-10周龄)将用于本研究。将在1 μ l配制缓冲液中以不同剂量(1×10^7 、 1×10^8 和 1×10^9 vg/眼睛)经由视网膜下(SR)注射将载体(包括CAG.依那西普(SEQ ID NO:15或16(有和没有侧接ITR))或mU1a.Vh4i.依那西普.scAAV(SEQ ID NO:17或18(有或没有侧接ITR序列))或载体化EYS606,以及AAV8.CAG.GFP和AAV8.NUL)递送至小鼠眼睛。将在SR注射后1、2和4周进行眼底和OCT成像。将在施用后5周收集眼部样本。将通过ELISA量化眼组织中的抗体或融合蛋白表达水平。将通过用各种视网膜细胞标记物进行免疫荧光染色来确定细胞类型特异性。将选择测试载体用于功效研究。还将探索不同的施用途径(ROA),包括脉络膜上腔、前房内和玻璃体内注射。将使用优选的ROA用于功效研究。

[0334] 将通过用人IRBP肽免疫在B10.RIII小鼠中诱导实验性自身免疫葡萄膜炎(EAU)来进行功效研究。T细胞介导的眼部自身免疫反应将在该模型中发生,在诱导后大约11至18天达到峰值。将在诱导EAU前2周或后1周经由优选的ROA在小鼠眼中施用测试载体。对侧的眼睛将用AAV.NUL载体递送并用作对照。将在诱导EAU后第10、17和30天测试眼底和OCT成像、视网膜电图(ERG)和视动性眼球震颤(OKN),以监测疾病的进展。将在EAU诱导后5周收集眼组织或整个眼球。将通过ELISA检测和量化眼组织中的融合蛋白表达水平。将通过组织学和免疫荧光染色评价视网膜结构变化和神经元存活。

[0335] 6.5实施例5:体内研究

[0336] 在本研究中,将经由局部施用(视网膜下(SR),表8)评价腺相关病毒(AAV)载体中的全长和Fab阿达木单抗抗体(AAV8.CAG.阿达木单抗.IgG(NIU001)和AAV8.CAG.阿达木单抗.Fab(NIU002))以及依那西普Fc融合蛋白(AAV8.CAG.依那西普)在小鼠眼组织中体内AAV

介导的抗体表达。

[0337] 表8. 研究布局

组	载体	ROA	注射体积(uL)	剂量(vg/眼睛)	N (动物)	N (眼睛)
[0338]	1 AAV8.CAG.阿达木	SR	1	1.00E+09	2	4
	2 单抗.IgG	SR	1	1.00E+08	2	4
	3 AAV8.CAG.阿达木	SR	1	1.00E+09	3	6
	4 单抗.Fab	SR	1	1.00E+08	3	6
	5 AAV8.CAG.依那西普	SR	1	1.00E+09	3	6
	6 普	SR	1	1.00E+08	3	6
	7 媒介物	SR	1	1.00E+09	2	4

[0339] 已在体外构建和测试了载体化阿达木单抗和依那西普序列。年轻的成年B10.RIII小鼠(6-8周龄)用于本研究。将在1μl配制缓冲液中以两种不同剂量(1×10^8 和 1×10^9 vg/眼睛)经由视网膜下(SR)注射将载体(包括AAV8.CAG.阿达木单抗.IgG、AAV8.CAG.阿达木单抗.Fab、AAV8.CAG.依那西普)和媒介物递送至小鼠眼睛(表8)。

[0340] 在SR注射后2和4周进行眼底和OCT成像。在施用后4周收集眼部样本。通过ELISA量化眼组织中的抗体或融合蛋白表达水平。通过用各种视网膜细胞标记物进行免疫荧光染色来确定细胞类型特异性。在施用后2周和4周通过组织学和免疫荧光染色评价视网膜结构变化和神经元存活。

[0341] 6.6实施例6:载体表达的依那西普结合动力学的评价

[0342] 将评估载体化依那西普从由顺式质粒产生的AAV的表达和纯化。将在各种配体结合测定中将纯化的载体化依那西普与各种TNF α 蛋白结合的动力学与商业生产的依那西普进行比较。

[0343] 使用Biacore™(表面等离子共振(SPR))测定的结合亲和力:进行一项研究以使用BiacoreT200测量不同TNF- α (TNF α)分子与纯化的TNFR融合蛋白的结合亲和力。首先,将TNF α 与pAAV.CAG.依那西普产生的融合蛋白的结合亲和力和TNF α 与商业依那西普的结合进行比较。其次,测试来自不同物种的TNF α 的结合亲和力,以便确定各种物种TNF α 蛋白对稍后的动物模型研究的适用性。在25℃下使用HBS-EP+作为运行缓冲液进行Biacore测定。通过Fc捕获方法(捕获时间为15-20分钟)将稀释的融合蛋白捕获在传感器芯片上。可以单独测试不同物种的TNF α 蛋白(人、猕猴、猪、小鼠、犬、兔和大鼠)作为分析物,然后在解离阶段注射运行缓冲液。计算解离率[Koff=Kd=蛋白质解离率;Kon=Ka=蛋白质缔合率;K $\rightarrow$ D=Koff/Kon],并且KD值越小(越低)表明TNFR融合蛋白对其靶标的亲和力越大。

[0344] 表9. 测定设置

[0345]	配体	分析物
	依那西普	人TNF α
	pAAV.CAG.依那西普	人TNF α
	依那西普	猕猴TNF α
	pAAV.CAG.依那西普	猕猴TNF α

依那西普	猪TNF α
pAAV.CAG.依那西普	猪TNF α
依那西普	小鼠TNF α
pAAV.CAG.依那西普	小鼠TNF α
依那西普	犬TNF α
pAAV.CAG.依那西普	犬TNF α
依那西普	兔TNF α
pAAV.CAG.依那西普	兔TNF α
依那西普	大鼠TNF α
pAAV.CAG.依那西普	大鼠TNF α

[0346] 不同物种TNF α 与载体化依那西普与商业依那西普的结合亲和力(KD)将根据它们的KD值进行排序。

[0347] 6.7实施例7:TNF融合蛋白效应功能的测量

[0348] 将通过体外测定来评价载体产生的依那西普的效应功能、抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC)和补体依赖性细胞毒性(CDC),并将它们与商业生产的依那西普(ENBREL)进行比较。效应功能是通过抗体的Fc结构域和因此包含Fc结构域的融合蛋白(诸如依那西普)引发的。

[0349] 材料和方法

[0350] 将靶细胞(CHO/DG44-tm TNF α ;GenScript目录号RD00746)在37℃和5%CO₂下用相应的完全培养基维持。将效应细胞(外周血单核细胞,PBMC;Saily Bio目录号XFB-HP100B)在37℃下解冻,并在37℃和5%CO₂下用1640完全培养基维持。

[0351] 对于ADCC剂量反应测定,CHO/DG44-tm TNF α 和PBMC可以分别用作靶细胞和效应细胞。在将E/T(效应细胞与靶细胞)比率设置为25:1时,依那西普(商业)和抗CHO/DG44-tm TNF α 的人IgG1分别用作阳性和阴性对照。简而言之,方法步骤是:

[0352] CHO/DG44-tm TNF α (靶细胞)

[0353] +

[0354] 样品

[0355] +

[0356] PBMC(效应细胞)

[0357] ↓

[0358] 靶细胞裂解%

[0359] 将效应细胞(PBMC)解冻并用测定缓冲液(**CellTiter-Glo®**检测试剂盒(Promega,目录号G7573)重新悬浮。还将靶细胞解冻并用ADCC测定缓冲液重新悬浮,然后按照板图在悬浮液中转移到测定板。也将溶液中的对照和测试样品转移到测定板,并将测定板在室温下孵育30分钟。根据E/T比率调节效应细胞密度,然后将效应细胞悬液转移至测定板。然后将测定板在细胞培养箱(37℃/5%CO₂)中孵育6小时,取出,然后将测定板的相应孔的上清液转移至另一个96孔测定板。将LDH混合物(LDH细胞毒性检测试剂盒,Roche目录号11644793001)转移至第二个96孔测定板的相应孔中,并用**PERAStar®**(BMG LABTECH)酶标仪读取发光/吸光度。

[0360] 对于CDC剂量反应研究,CHO/DG44-tm TNF α 可以用作靶细胞。使用5%NHSC(正常人血清补体),依那西普和抗CHO/DG44-tm TNF α 的人IgG1可以分别用作阳性和阴性对照。简而言之,CDC测定方法步骤是:

[0361] CHO/DG44-tm TNF α (靶细胞)

[0362] +

[0363] 样品

[0364] +

[0365] NHSC

[0366] ↓

[0367] 靶细胞裂解%

[0368] 通过离心收获靶细胞并用测定缓冲液(CellTiter-Glo®检测试剂盒(Promega,目录号G7573)重新悬浮。在含有CDC测定缓冲液的溶液中制备样品和对照。调节靶细胞密度,然后将细胞悬液转移至测定板。还将工作溶液中的对照和测试样品转移至测定板,然后将测定板在室温下孵育30分钟,然后将正常人血清补体(NHSC)工作溶液(Quidel目录号A113)添加到测定板中。将测定板在细胞培养箱(37℃/5%CO₂)中孵育4小时,取出,并将Cell Titer-Glo®工作溶液添加到相应孔中,并将板在室温下孵育约10-30分钟。在PHERAStar® FSX (BMG LABTECH)酶标仪上读取发光数据以确定活细胞的数量。从PHERAStar® FSX系统导出ADCC和CDC研究的原始数据,并使用Microsoft Office Excel 2016和GraphPad Prism 6软件进行分析。ADCC%靶细胞裂解的公式=100*(OD样品-OD肿瘤细胞加效应细胞)/(OD最大释放-OD最小释放)。CDC%靶细胞裂解的公式=100*(1-(RLU样品-RLUNHSC)/(RLU细胞+NHSC-RLUNHSC))。如下使用四参数函数获得相对EC50值,该函数表征其中%靶细胞裂解与测试样品浓度的关系的S形曲线: $Y = \text{底部} + (\text{顶部} - \text{底部}) / (1 + 10^{((\text{LogEC50} - X) * \text{Hill斜率}))}$ = 靶细胞裂解的百分比;并且X=浓度。

[0369] 在E/T比率为25:1时,CHO/DG44-tm TNF α 细胞可以用作ADCC剂量反应研究中的靶细胞。计算阳性对照(商业依那西普)、样品和阴性对照(人IgG1)的剂量反应和最佳拟合值(例如,EC50)。

[0370] 在利用5%NHSC时,CHO/DG44-tm TNF α 细胞用作CDC剂量反应研究中的靶细胞。计算阳性对照(依那西普)、样品和阴性对照(人IgG1)的剂量反应和最佳拟合值(例如,EC50)。

[0371] 将AAV-依那西普ADCC和CDC活性与商业依那西普进行比较。不受任何一种理论的束缚,由于翻译后修饰(诸如糖基化),可能会观察到差异,预计这会因商业依那西普的制造细胞培养物而不同。

[0372] 等效案

[0373] 尽管参考具体实施方案详细描述了本发明,但是应当理解,功能上等效的变型在本发明的范围内。实际上,根据前面的描述和附图,除了本文示出和描述的那些之外,本发明的各种修改对于本领域技术人员来说将变得显而易见。此类修改旨在落入所附权利要求的范围内。仅使用常规实验,本领域技术人员将认识到或能够确定本文所述的本发明的具体实施方案的许多等效案。此类等效案意图由以下权利要求书涵盖。

[0374] 本说明书中提及的所有公布、专利和专利申请都以引用的方式并入本说明书,所

述引用的程度就如同已特定地和个别地指示将各个别公布、专利或专利申请以引用的方式整体并入本文一般。

序列表

<110> 再生生物股份有限公司 (REGENXBIO INC)

<120> 用于眼部适应症的载体化TNF- α 拮抗剂

<130> 38013.0016P1

<150> 63/107,415

<151> 2020-10-29

<160> 161

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 211

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;抗TNF α Fc融合物

<400> 1

```

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

```

			180					185					190			
Lys	Leu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ile	Glu	Asn	Val	Lys	Gly	Thr	Glu	Asp	Ser	
		195					200					205				
Gly	Thr	Thr														
	210															
<210>	2															
<211>	235															
<212>	PRT															
<213>	人工序列(Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	合成构建体;抗TNFα Fc融合物															
<400>	2															
Leu	Pro	Ala	Gln	Val	Ala	Phe	Thr	Pro	Tyr	Ala	Pro	Glu	Pro	Gly	Ser	
1			5					10					15			
Thr	Cys	Arg	Leu	Arg	Glu	Tyr	Tyr	Asp	Gln	Thr	Ala	Gln	Met	Cys	Cys	
			20					25					30			
Ser	Lys	Cys	Ser	Pro	Gly	Gln	His	Ala	Lys	Val	Phe	Cys	Thr	Lys	Thr	
			35					40					45			
Ser	Asp	Thr	Val	Cys	Asp	Ser	Cys	Glu	Asp	Ser	Thr	Tyr	Thr	Gln	Leu	
			50					55					60			
Trp	Asn	Trp	Val	Pro	Glu	Cys	Leu	Ser	Cys	Gly	Ser	Arg	Cys	Ser	Ser	
65								70					75		80	
Asp	Gln	Val	Glu	Thr	Gln	Ala	Cys	Thr	Arg	Glu	Gln	Asn	Arg	Ile	Cys	

210	215	220
Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp		
225	230	235
<210> 3		
<211> 232		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;抗TNF α Fc融合物		
<400> 3		
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala		
1 5 10 15		
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro		
20 25 30		
Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val		
35 40 45		
Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val		
50 55 60		
Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln		
65 70 75 80		
Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln		
85 90 95		
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala		
100 105 110		
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro		
115 120 125		
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr		
130 135 140		
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser		
145 150 155 160		
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr		
165 170 175		
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr		
180 185 190		
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe		
195 200 205		
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys		
210 215 220		
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		

225	230
<210> 4	
<211> 207	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;抗TNF α Fc融合物	
<400> 4	
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr	
1 5 10 15	
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu	
20 25 30	
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys	
35 40 45	
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser	
50 55 60	
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys	
65 70 75 80	
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile	
85 90 95	
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro	
100 105 110	
Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu	
115 120 125	
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn	
130 135 140	
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser	
145 150 155 160	
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg	
165 170 175	
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu	
180 185 190	
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	
195 200 205	
<210> 5	
<211> 25	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	

<223> 合成构建体;铰链区

<400> 5

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
 20 25

<210> 6

<211> 183

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;EYS606: Fc

<400> 6

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

<210> 7

<211> 163

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;EYS606: Fc

<400> 7

Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr
1				5					10					15	
Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu
			20					25					30		
Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys
		35					40					45			
Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser
	50					55					60				
Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys
65				70				75						80	
Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile
			85					90					95		
Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro
		100						105					110		
Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu
	115						120					125			
Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn
	130					135					140				
Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser
145				150						155				160	
Asp	Gly	Ser													

Asp Gly Ser

<210> 8

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;切割位点

<400> 8

Leu	Val	Pro	Arg	Gly	Ser
1				5	

<210> 9

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;铰链区

<400> 9

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15

Gly Pro Ser Val
20

<210> 10

<211> 467

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;依那西普TNFR2:Fc融合物

<400> 10

Leu Pro Ala Gln Val Ala Phe Thr Pro Tyr Ala Pro Glu Pro Gly Ser
1 5 10 15

Thr Cys Arg Leu Arg Glu Tyr Tyr Asp Gln Thr Ala Gln Met Cys Cys
20 25 30

Ser Lys Cys Ser Pro Gly Gln His Ala Lys Val Phe Cys Thr Lys Thr
35 40 45

Ser Asp Thr Val Cys Asp Ser Cys Glu Asp Ser Thr Tyr Thr Gln Leu
50 55 60

Trp Asn Trp Val Pro Glu Cys Leu Ser Cys Gly Ser Arg Cys Ser Ser
65 70 75 80

Asp Gln Val Glu Thr Gln Ala Cys Thr Arg Glu Gln Asn Arg Ile Cys
85 90 95

Thr Cys Arg Pro Gly Trp Tyr Cys Ala Leu Ser Lys Gln Glu Gly Cys
100 105 110

Arg Leu Cys Ala Pro Leu Arg Lys Cys Arg Pro Gly Phe Gly Val Ala
115 120 125

Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro
130 135 140

Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His
145 150 155 160

Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala
165 170 175

Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val
180 185 190

His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr

195	200	205
Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly		
210	215	220
Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp Glu Pro Lys Ser Cys		
225	230	235
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
245	250	255
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
260	265	270
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
275	280	285
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
290	295	300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
305	310	315
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
325	330	335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
340	345	350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
355	360	365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
370	375	380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
385	390	395
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
405	410	415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
420	425	430
Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met		
435	440	445
His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser		
450	455	460
Pro Gly Lys		
465		
<210> 11		
<211> 487		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		

<220>

<223> 合成构建体;依那西普加前导序列

<400> 11

Met	Tyr	Arg	Met	Gln	Leu	Leu	Leu	Leu	Ile	Ala	Leu	Ser	Leu	Ala	Leu
1				5					10					15	
Val	Thr	Asn	Ser	Leu	Pro	Ala	Gln	Val	Ala	Phe	Thr	Pro	Tyr	Ala	Pro
				20				25						30	
Glu	Pro	Gly	Ser	Thr	Cys	Arg	Leu	Arg	Glu	Tyr	Tyr	Asp	Gln	Thr	Ala
				35				40						45	
Gln	Met	Cys	Cys	Ser	Lys	Cys	Ser	Pro	Gly	Gln	His	Ala	Lys	Val	Phe
				50				55						60	
Cys	Thr	Lys	Thr	Ser	Asp	Thr	Val	Cys	Asp	Ser	Cys	Glu	Asp	Ser	Thr
65					70				75					80	
Tyr	Thr	Gln	Leu	Trp	Asn	Trp	Val	Pro	Glu	Cys	Leu	Ser	Cys	Gly	Ser
				85					90					95	
Arg	Cys	Ser	Ser	Asp	Gln	Val	Glu	Thr	Gln	Ala	Cys	Thr	Arg	Glu	Gln
				100					105					110	
Asn	Arg	Ile	Cys	Thr	Cys	Arg	Pro	Gly	Trp	Tyr	Cys	Ala	Leu	Ser	Lys
				115					120					125	
Gln	Glu	Gly	Cys	Arg	Leu	Cys	Ala	Pro	Leu	Arg	Lys	Cys	Arg	Pro	Gly
				130					135					140	
Phe	Gly	Val	Ala	Arg	Pro	Gly	Thr	Glu	Thr	Ser	Asp	Val	Val	Cys	Lys
145					150					155				160	
Pro	Cys	Ala	Pro	Gly	Thr	Phe	Ser	Asn	Thr	Thr	Ser	Ser	Thr	Asp	Ile
				165					170					175	
Cys	Arg	Pro	His	Gln	Ile	Cys	Asn	Val	Val	Ala	Ile	Pro	Gly	Asn	Ala
				180					185					190	
Ser	Met	Asp	Ala	Val	Cys	Thr	Ser	Thr	Ser	Pro	Thr	Arg	Ser	Met	Ala
				195					200					205	
Pro	Gly	Ala	Val	His	Leu	Pro	Gln	Pro	Val	Ser	Thr	Arg	Ser	Gln	His
				210					215					220	
Thr	Gln	Pro	Thr	Pro	Glu	Pro	Ser	Thr	Ala	Pro	Ser	Thr	Ser	Phe	Leu
225					230					235				240	
Leu	Pro	Met	Gly	Pro	Ser	Pro	Pro	Ala	Glu	Gly	Ser	Thr	Gly	Asp	Glu
				245					250					255	
Pro	Lys	Ser	Cys	Asp	Lys	Thr	His	Thr	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro
				260					265					270	
Glu	Leu	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys
				275					280					285	

Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val																			
290																			
Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp																			
305																			
Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr																			
Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp																			
Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu																			
Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg																			
Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys																			
Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp																			
Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys																			
Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser																			
Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser																			
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser																			
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys																			
<210>	12																		
<211>	400																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列(Artificial Sequence)																		
<220>																			
<223>	合成构建体;EYS606																		
<400>	12																		
Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu																			
Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro																			
His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys																			

Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys		
50	55	60
Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp		
65	70	75 80
Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu		
85	90	95
Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val		
100	105	110
Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg		
115	120	125
Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe		
130	135	140
Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu		
145	150	155 160
Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu		
165	170	175
Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr		
180	185	190
Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile Glu Asn Val Lys Gly Thr Glu Asp Ser		
195	200	205
Gly Thr Thr Leu Val Pro Arg Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro		
210	215	220
Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe		
225	230	235 240
Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val		
245	250	255
Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe		
260	265	270
Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro		
275	280	285
Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr		
290	295	300
Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val		
305	310	315 320
Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala		
325	330	335
Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg		
340	345	350
Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly		

355	360	365	
Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro			
370	375	380	
Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser			
385	390	395	400
<210> 13			
<211> 1404			
<212> DNA			
<213> 人工序列(Artificial Sequence)			
<220>			
<223> 合成构建体;依那西普			
<400> 13			
ctgcctgcac aggtggcttt taccccatat gtcctgagc ctggatccac ttgtaggctg			60
agggagtatt atgatcagac agcccagatg tgctgttcaa aatgttcccc tggacagcat			120
gctaagggtgt tttgtaccaa gacaagtgac actgtctgtg acagctgtga ggattctact			180
tacaccacagc tgtggaattg ggtgccagaa tgtctgtcat gtgggagcag gtgttctagt			240
gaccagggtgg aaactcaggc ctgtacaaga gagcagaaca ggatttgtac atgtagacca			300
gggtgggtact gtgccctgag caaacaggaa gggtgtaggc tctgtgctcc cctgaggaaa			360
tgtagacctg ggtttgggtt ggccagacca ggaacagaaa cttctgatgt ggtctgtaag			420
ccctgtgcac caggaaacctt ttcaaact accagcagta cagacatctg cagaccccat			480
cagatctgta atgtggtggc cattcctggg aatgcaagta tggatgctgt ctgtacttcc			540
accagcccaa ctagatccat ggccccaggg gcagtccacc tgccccagcc tgtcagcact			600
agaagccagc atactcagcc cacacctgag cttctacag caccctccac ctctttcctg			660
ctgcctatgg ggccatcacc tccagctgag ggcagtacag gggatgaacc taagtcattg			720
gacaaaacc atacctgtcc accctgccct gtcctgagc tgctgggggg acccagtgtc			780
ttcctgtttc ctcccaaacc taaagatact ctgatgatca gcagaacccc agaggtcaca			840
tgcgtggtag tggatgtctc ccatgaagac cctgaagtga agtttaattg gtatgtagat			900
ggggtggagg tccataatgc aaagaccaag cccagggaag aacagtataa cagtacttac			960
aggggtggtgt ctgtgctgac agtactgcac caggactggc tgaatgggaa ggagtataag			1020
tgcaaagtca gcaataaggc actgcctgcc cctattgaaa agacaattag taaagctaag			1080
gggcagccca gggaaccaca ggtctacact ctgcccccta gtagagagga aatgacaaag			1140
aatcaggtca gtctgacatg tctgggtcaag ggattctatc caagtgatat tgcagtggag			1200
tgggaaaagta atggccagcc agagaataac tacaagacta cccccccagt gctggacagt			1260
gatggatctt tctttctgta ctccaaactg actgtggata aatcaagatg gcagcagggc			1320
aatgtctttt cctgttcagt catgcatgaa gccctgcata atcactacac tcagaagagc			1380
ctgtccctgt cccctggcaa atga			1404
<210> 14			
<211> 1464			
<212> DNA			

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;依那西普加前导序列

<400> 14

atgtatagga tgcagctgct gctgctgatt gctctgagtc tggctctggt cacaaatagt	60
ctgcctgcac aggtggcttt taccccatat gtcctgagc ctggatccac ttgtaggctg	120
agggagtatt atgatcagac agcccagatg tgctgttcaa aatgttcccc tggacagcat	180
gctaagggtgt tttgtaccaa gacaagtgc actgtctgtg acagctgtga ggattctact	240
tacaccgcagc tgtggaattg ggtgccagaa tgtctgtcat gtgggagcag gtgttctagt	300
gaccagggtg aaactcaggc ctgtacaaga gagcagaaca ggatttgtac atgtagacca	360
gggtgggtact gtgccctgag caaacaggaa gggtgtaggc tctgtgctcc cctgaggaaa	420
tgtagacctg ggtttgggt ggccagacca ggaacagaaa cttctgatgt ggtctgtaag	480
ccctgtgcac caggaacctt ttcaaact accagcagta cagacatctg cagaccccat	540
cagatctgta atgtggtggc cattcctggg aatgcaagta tggatgctgt ctgtacttcc	600
accagcccaa ctagatccat ggccccagg gcagtcacc tgccccagcc tgtcagcact	660
agaagccagc atactcagcc cacacctgag cttctacag caccctccac ctctttcctg	720
ctgcctatgg ggccatcacc tccagctgag ggcagtacag gggatgaacc taagtcatgt	780
gacaaaaccc atacctgtcc accctgccct gtcctgagc tgctggggg acccagtgtc	840
ttcctgtttc ctcccaaacc taaagatact ctgatgatca gcagaacccc agaggtcaca	900
tgcgtggtag tggatgtct ccatgaagac cctgaagtga agtttaattg gtatgtagat	960
ggggtggagg tccataatgc aaagaccaag cccaggaag aacagtataa cagtacttac	1020
agggtggtgt ctgtgctgac agtactgcac caggactggc tgaatgggaa ggagtataag	1080
tgcaaagtca gcaataaggc actgcctgcc cctattgaaa agacaattag taaagctaag	1140
gggcagccca gggaaccaca ggtctacact ctgcccccta gtagagagga aatgacaaag	1200
aatcagggtca gtctgacatg tctggtcaag ggattctatc caagtgatat tgcaaggag	1260
tgggaaagta atggccagcc agagaataac tacaagacta cccccagc gctggacagt	1320
gatggatctt tctttctgta ctccaaactg actgtggata aatcaagatg gcagcagggc	1380
aatgtctttt cctgttcagt catgcatgaa gccctgcata atcactacac tcagaagagc	1440
ctgtccctgt cccctggcaa atga	1464

<210> 15

<211> 3784

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;pAAV.CAG.依那西普(从5'-ITR到3-ITR)

<400> 15

ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt	60
ggtcgccccg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact	120
aggggttcct tgtagttaat gattaacccg ccatgctact tatctaccag ggtaatgggg	180

atcctctaga	actatagcta	gtcgacattg	attattgact	agttattaat	agtaatcaat	240
tacgggggtca	ttagttcata	gcccatatat	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	300
tggcccgccct	ggctgaccgc	ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	360
tcccatagta	acgccaatag	ggactttcca	ttgacgtcaa	tgggtggagt	atttacggta	420
aactgcccac	ttggcagtac	atcaagtgtg	tcatatgcc	agtacgcccc	ctattgacgt	480
caatgacggt	aaatggcccg	cctggcatta	tgcccagtac	atgaccttat	gggactttcc	540
tacttggcag	tacatctacg	tattagtc	cgctattacc	atggctcgagg	tgagccccac	600
gttctgcttc	actctcccca	tctccccccc	ctccccacce	ccaattttgt	atttattttat	660
tttttaatta	ttttgtgcag	cgatgggggc	gggggggggg	ggggggcgcg	cgccaggcgg	720
ggcggggcg	ggcgaggggc	ggggcggggc	gaggcgggaga	ggtgcggcgg	cagccaatca	780
gagcggcg	ctccgaaagt	ttccttttat	ggcgagggcg	cggcgggcgg	ggccctataa	840
aaagcgaagc	gcgcggcg	cgggagtcgc	tgcgcgctgc	cttcgccccg	tgccccgctc	900
cgcgcgcc	tcgcgcc	cgccccggt	ctgactgacc	gcgttactcc	cacaggtgag	960
cgggcgggac	ggcccttctc	ctccgggctg	taattagcgc	ttggtttaat	gacggcttgt	1020
ttcttttctg	tggctgctg	aaagccttga	ggggctccgg	gaggggccctt	tgtgcggggg	1080
gagcggctcg	gggggtgcgt	gcgtgtgtgt	gtgcgtgggg	agcgccgcgt	gcggctccgc	1140
gctgcccggc	ggctgtgagc	gctgcgggcg	cggcgcgggg	ctttgtgcgc	tccgcagtgt	1200
gcgcgagggg	agcgcgggcc	ggggcggtgc	cccgcggtgc	ggggggggct	gcgaggggaa	1260
caaaggtgc	gtgcgggggtg	tgtgcgtggg	gggggtagca	gggggtgtgg	gcgcgtcggt	1320
cgggctgcaa	ccccccctgc	acccccctcc	ccgagttgct	gagcacggcc	cggcttcggg	1380
tgcggggctc	cgtacggggc	gtggcgcggg	gctcgccgtg	ccgggcgggg	ggtggcgggca	1440
ggtgggggtg	ccgggcgggg	cggggccgcc	tcgggcccgg	gagggtcgg	gggaggggcg	1500
cggcgggccc	cggagcgccg	gcggctgtcg	aggcgcgggc	agccgcagcc	attgcctttt	1560
atggtaatcg	tgcgagaggg	cgcagggact	tcctttgtcc	caaactctgtg	cggagccgaa	1620
atctgggagg	cgccgccgca	ccccctctag	cgggcgcggg	gcgaagcgg	gcggcgccgg	1680
caggaaggaa	atgggcgggg	agggccttcg	tgctcgccg	cgccgccgtc	cccttctccc	1740
tctccagcct	cggggctgtc	cgcgggggga	cggctgcctt	cgggggggac	ggggcagggc	1800
gggggttcggc	ttctggcgtg	tgaccggcgg	ctctagagcc	tctgctaacc	atgttcatgc	1860
cttcttcttt	ttctacagc	tctgggcaa	cgtgctggtt	attgtgctgt	ctcatcattt	1920
tggcaaagaa	ttcgccacca	tgtataggat	gcagctgctg	ctgctgattg	ctctgagtct	1980
ggctctggtc	acaaaatagtc	tgctgcaca	ggtggctttt	accccatatg	ctcctgagcc	2040
tggatccact	tgtaggctga	gggagtatta	tgatcagaca	gccagatgt	gctgttcaaa	2100
atgttcccct	ggacagcatg	ctaaggtgtt	ttgtaccaag	acaagtgaca	ctgtctgtga	2160
cagctgtgag	gattctactt	acaccagct	gtggaattgg	gtgccagaat	gtctgtcatg	2220
tgggagcagg	tgttctagt	accaggtgga	aactcaggcc	tgtacaagag	agcagaacag	2280
gatttgtaca	tgtagaccag	ggtgggtactg	tgccctgagc	aaacaggaag	ggtgtaggct	2340
ctgtgctccc	ctgaggaaat	gtagacctgg	gtttgggggtg	gccagaccag	gaacagaaac	2400
ttctgatgtg	gtctgtaagc	cctgtgcacc	aggaaccttt	tcaaacta	ccagcagtac	2460
agacatctgc	agaccccatc	agatctgtaa	tgtggtggcc	attcctggga	atgcaagtat	2520

```

ggatgctgtc tgtacttcca ccagcccaac tagatccatg gccccagggg cagtccacct 2580
gccccagcct gtcagcacta gaagccagca tactcagccc acacctgagc cttctacagc 2640
accctccacc tctttcctgc tgcctatggg gccatcacct ccagctgagg gcagtacagg 2700
ggatgaacct aagtcattgtg acaaaaccca tacctgtcca ccctgccctg ctcctgagct 2760
gctgggggga cccagtgtct tcctgtttcc tcccaaacct aaagatactc tgatgatcag 2820
cagaacccca gaggtcacat gcgtggtagt ggatgtctcc catgaagacc ctgaagtga 2880
gtttaattgg tatgtagatg gggtaggagt ccataatgca aagaccaagc ccagggaaga 2940
acagtataac agtacttaca gggtaggtgtc tgtgtctgaca gtactgcacc aggactggct 3000
gaatgggaag gagtataagt gcaaagtcag caataaggca ctgcctgccc ctattgaaaa 3060
gacaattagt aaagctaagg ggcagcccag ggaaccacag gtctacactc tgccccctag 3120
tagagaggaa atgacaaaaga atcaggtcag tctgacatgt ctggtcaagg gattctatcc 3180
aagtgatatt gcagtggagt gggaaagtaa tggccagcca gagaataact acaagactac 3240
ccccccagtg ctggacagtg atggatcttt ctttctgtac tccaaactga ctgtggataa 3300
atcaagatgg cagcagggca atgtcttttc ctgttcagtc atgcatgaag ccctgcataa 3360
tactacact cagaagagcc tgtccctgtc ccctggcaaa tgataactcg aggacgggt 3420
gaactacgcc tgaggatccg atctttttcc ctctgcaaaa aattatgggg acatcatgaa 3480
gccccttgag catctgactt ctggctaata aaggaaattt attttcattg caatagtgtg 3540
ttggaatttt ttgtgtctct cactcggaag caattcgttg atctgaattt cgaccacca 3600
taatacccat taccctggta gataagtagc atggcgggtt aatcattaac tacaaggaac 3660
ccctagtgat ggagtggcc actccctctc tgcgcgtcg ctcgctcact gaggccgggc 3720
gaccaaaggc cgcccgcgc cggggctttg cccgggcggc ctcagtgagc gagcgagcgc 3780
gcag 3784

```

<210> 16

<211> 3362

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;pAAV.CAG.依那西普

<400> 16

```

acattgatta ttgactagtt attaatagta atcaattacg gggtcattag ttcatagccc 60
atatatggag ttccgcgtta cataacttac ggtaaattgg ccgcctggct gaccgcccac 120
cgacccccgc ccattgacgt caataatgac gtatgttccc atagtaacgc caatagggac 180
tttccattga cgtcaatggg tggagtattt acggtaaact gcccacttgg cagtacatca 240
agtgtatcat atgccaagta cgcacctat tgacgtcaat gacggtaaat ggccgcctg 300
gcattatgcc cagtacatga ctttatggga ctttctact tggcagtaca tctacgtatt 360
agtcatcgct attaccatgg tcgaggtgag cccacgttc tgcttctact tccccatctc 420
ccccccctcc ccacccccaa ttttgtattt atttattttt taattatttt gtgcagcgat 480
gggggcgggg gggggggggg ggcgcgcgcc aggcggggcg gggcggggcg agggcgggg 540
cggggcgagg cggagaggtg cggcggcagc caatcagagc ggcgcgctcc gaaagtttcc 600

```

ttttatggcg	aggcggcggc	ggcggcggcc	ctataaaaag	cgaagcgcg	ggcggcgggg	660
agtcgctgcg	cgctgccttc	gccccgtgcc	ccgctccgcc	gccgcctcgc	gccgccccgc	720
ccggctctga	ctgaccgcgt	tactcccaca	ggtgagcggg	cgggacggcc	cttctcctcc	780
gggctgtaat	tagcgcttgg	tttaatgacg	gcttgtttct	tttctgtggc	tgcgtgaaag	840
ccttgagggg	ctccgggagg	gccctttgtg	cggggggagc	ggctcggggg	gtgcgtgcgt	900
gtgtgtgtgc	gtggggagcg	ccgcgtgcgg	ctccgcgctg	cccggcggct	gtgagcgctg	960
cgggcgcggc	gcggggcttt	gtgcgtccg	cagtgtgcgc	gaggggagcg	cggccggggg	1020
cggtgccccg	cgggtgcggg	ggggctgcga	ggggaacaaa	ggctgcgtgc	ggggtgtgtg	1080
cgtggggggg	tgagcagggg	gtgtgggcgc	gtcggtcggg	ctgcaacccc	ccctgcaccc	1140
ccctccccga	gttgctgagc	acggcccggc	ttcgggtgcg	gggctccgta	cggggcgctg	1200
cgcggggctc	gccgtgccgg	gcgggggggtg	gcggcagggtg	ggggtgccgg	gcggggcggg	1260
gccgcctcgg	gccggggagg	gctcggggga	ggggcgcggc	ggccccgga	gcgccggcgg	1320
ctgtcgaggc	gcggcgagcc	gcagccattg	ccttttatgg	taatcgtgcg	agagggcgca	1380
gggacttcct	ttgtcccaaa	tctgtgcgga	gccgaaatct	gggaggcgcc	gccgcacccc	1440
ctctagcggg	cgcggggcga	agcgggtgcg	cgcggcagg	aaggaaatgg	gcggggaggg	1500
ccttcgtgcg	tcgccgcgcc	gccgtcccct	tctccctctc	cagcctcggg	gctgtccgcg	1560
gggggacggc	tgcttcggg	ggggacgggg	cagggcgggg	ttcggcttct	ggcgtgtgac	1620
cggcggtctc	agagcctctg	ctaaccatgt	tcatgccttc	ttctttttcc	tacagctcct	1680
gggcaacgtg	ctggttattg	tgctgtctca	tcattttggc	aaagaattcg	ccaccatgta	1740
taggatgcag	ctgctgctgc	tgattgctct	gagtctggct	ctggtcacia	atagtctgcc	1800
tgcacagggtg	gcttttacc	catatgctcc	tgagcctgga	tccacttgta	ggctgaggga	1860
gtattatgat	cagacagccc	agatgtgctg	ttcaaaatgt	tcccctggac	agcatgctaa	1920
ggtgttttgt	accaagacaa	gtgacactgt	ctgtgacagc	tgtgaggatt	ctacttacac	1980
ccagctgtgg	aattgggtgc	cagaatgtct	gtcatgtggg	agcaggtgtt	ctagtacca	2040
ggtggaaact	caggcctgta	caagagagca	gaacaggatt	tgtacatgta	gaccagggtg	2100
gtactgtgcc	ctgagcaaac	aggaagggtg	taggctctgt	gctcccctga	ggaaatgtag	2160
acctgggttt	ggggtggcca	gaccaggaac	agaaacttct	gatgtggtct	gtaagccctg	2220
tgcaccagga	accttttcaa	acactaccag	cagtacagac	atctgcagac	cccatcagat	2280
ctgtaatgtg	gtggccattc	ctgggaatgc	aagtatggat	gctgtctgta	cttccaccag	2340
cccaactaga	tccatggccc	caggggcagt	ccacctgccc	cagcctgtca	gcactagaag	2400
ccagcatact	cagcccacac	ctgagccttc	tacagcacc	tccacctctt	tctgtctgcc	2460
tatggggcca	tcacctccag	ctgagggcag	tacaggggat	gaacctaaagt	catgtgacaa	2520
aaccataacc	tgtccaccct	gccctgctcc	tgagctgctg	gggggaccca	gtgtcttctc	2580
gtttcctccc	aaacctaaag	atactctgat	gatcagcaga	acccagagg	tcacatgcgt	2640
ggtagtggat	gtctcccatg	aagaccctga	agtgaagttt	aattggtatg	tagatggggt	2700
ggaggtccat	aatgcaaaga	ccaagcccag	ggaagaacag	tataacagta	cttacagggt	2760
ggtgtctgtg	ctgacagtac	tgcaccagga	ctggctgaat	gggaaggagt	ataagtgcaa	2820
agtcagcaat	aaggcactgc	ctgcccctat	tgaagagaca	attagtaaag	ctaaggggca	2880
gcccagggaa	ccacaggctc	acactctgcc	ccctagtaga	gaggaaatga	caaagaatca	2940

ggtcagtctg acatgtctgg tcaagggatt ctatccaagt gatattgcag tggagtggga	3000
aagtaatggc cagccagaga ataactacaa gactaccccc ccagtgtctgg acagtgatgg	3060
atcttttcttt ctgtactcca aactgactgt ggataaatca agatggcagc agggcaatgt	3120
cttttcctgt tcagtcacgc atgaagccct gcataatcac tacactcaga agagcctgtc	3180
cctgtccctt ggcaaatgat aactcgagga cgggggtgaac tacgcctgag gatccgatct	3240
ttttccctct gccaaaaatt atggggacat catgaagccc cttgagcatc tgacttctgg	3300
ctaataaagg aaatttatTT tcatgtcaat agtgtgttgg aattttttgt gtctctcact	3360
cg	3362
<210> 17	
<211> 2259	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;pAAV.sc.mUla.Vh4i. 依那西普 (5'-ITR到	
3'-ITR)	
<400> 17	
ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt	60
ggtcgccccg cctcagttag cgagcgagcg cgagagagg gagggtgaatt cagcggtatg	120
gaggcggtac tatgtatagc agaattcagg agcaaaactgg gaaaagcaac tgcttccaaa	180
tatttgtgat ttttacagt tagttttgga aaaactctta gcctaccaat tcttctaagt	240
gttttaaaat gtgggagcca gtacacatga agttatagag tgttttaatg aggcctaaat	300
atttaccgta actatgaaat gctacgata tcatgctgtt caggctccgt ggccacgcaa	360
ctcactactca ggtgagtatc tcagggatcc agacatgggg atatgggagg tgccctctgat	420
cccagggtc actgtgggtc tctctgttca cagggtaccg gtgccaccat gtataggatg	480
cagctgctgc tgctgattgc tctgagtctg gctctgttca caaatagtct gcctgcacag	540
gtggctttta ccccatatgc tcctgagcct ggatccactt gtaggctgag ggagtattat	600
gatcagacag ccagatgtg ctgttcaaaa tgttccccctg gacagcatgc taaggtgttt	660
tgtaccaaga caagtacac tgtctgtgac agctgtgagg attctactta caccagctg	720
tggaattggg tgccagaatg tctgtcatgt gggagcaggt gttctagtga ccagggtgaa	780
actcaggcct gtacaagaga gcagaacagg atttgtacat gtagaccagg gtgggtactgt	840
gccctgagca aacaggaagg gtgtaggtc tgtgctcccc tgaggaaatg tagacctggg	900
tttgggtgg ccagaccagg aacagaaact tctgatgtgg tctgtaagcc ctgtgcacca	960
ggaacctttt caaacactac cagcagtaca gacatctgca gaccccatca gatctgtaat	1020
gtgggtggcca ttctgggaa tgcaagtatg gatgtgtct gtacttccac cagcccaact	1080
agatccatgg cccagggggc agtccacctg cccagcctg tcagcactag aagccagcat	1140
actcagcca cacctgagcc ttctacagca cctccacct ctttctgtct gcctatgggg	1200
ccatcacctc cagctgaggg cagtacagg gatgaaccta agtcatgtga caaaacccat	1260
acctgtccac cctgccctgc tcctgagctg ctggggggac ccagtgtctt cctgtttcct	1320
cccaaacctc aagatactct gatgatcagc agaaccacag aggtcacatg cgtggtagt	1380

gatgtctccc atgaagaccc tgaagtgaag ttttaattggt atgtagatgg ggtggaggtc	1440
cataatgcaa agaccaagcc cagggaagaa cagtataaca gtacttacag ggtggtgtct	1500
gtgctgacag tactgcacca ggactggctg aatgggaagg agtataagtg caaagtcagc	1560
aataaggcac tgcctgcccc tattgaaaag acaattagta aagctaaggg gcagcccagg	1620
gaaccacagg tctacactct gccccctagt agagaggaaa tgacaaagaa tcaggtcagt	1680
ctgacatgtc tgggtcaaggg attctatcca agtgatattg cagtggagtg ggaaagtaat	1740
ggccagccag agaataacta caagactacc cccccagtgc tggacagtga tggatctttc	1800
tttctgtact ccaaactgac tgtggataaa tcaagatggc agcagggcaa tgtcttttcc	1860
tgttcagtca tgcatgaagc cctgcataat cactacactc agaagagcct gtccctgtcc	1920
cctggcaaat gataaaaagct tgatcttttt ccctctgcc aaaaattatgg ggacatcatg	1980
aagccccctg agcatctgac ttctggctaa taaaggaaat ttattttcat tgcaatagtg	2040
tgttggaatt ttttgtgtct ctcaactcggc tagcgaagca attctagcag gcatgctggg	2100
gagagatcga tctgaggaa cccctagtgt ggagttggcc actccctctc tgcgcgtcgc	2160
ctcgtcact gaggccgccc gggcaaagcc cgggcgtcgg gcgacctttg gtcgcccggc	2220
ctcagtgagc gagcgagcgc gcagagaggg agtggccaa	2259

<210> 18

<211> 1951

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;pAAV.sc.mUla.Vh4i. 依那西普 (启动子到 polyA)

<400> 18

atggaggcgg tactatgtag atgagaattc aggagcaaac tgggaaaagc aactgcttcc	60
aaatatattgt gatttttaca gtgtagtttt ggaaaaactc ttagcctacc aattcttcta	120
agtgttttaa aatgtgggag ccagtacaca tgaagttata gagtgtttta atgaggctta	180
aatattttacc gtaactatga aatgctacgc atatcatgct gttcaggctc cgtggccacg	240
caactcatac tcagggtgagt atctcaggga tccagacatg gggatatggg aggtgcctct	300
gatcccaggg ctcaactgtg gtctctctgt tcacaggtta ccggtgccac catgtatagg	360
atgcagctgc tgctgctgat tgctctgagt ctggctctgg tcacaaatag tctgcctgca	420
cagggtggctt ttaccccata tgctcctgag cctggatcca cttgtaggct gagggagtat	480
tatgatcaga cagcccagat gtgctgttca aaatgttccc ctggacagca tgctaagggtg	540
ttttgtacca agacaagtga cactgtctgt gacagctgtg aggattctac ttacaccag	600
ctgtggaatt ggggtgccaga atgtctgtca tgtgggagca ggtgttctag tgaccagggtg	660
gaaactcagg cctgtacaag agagcagaac aggatttgta catgtagacc aggggtgtac	720
tgtgccctga gcaaacagga aggggtgtagg ctctgtgctc ccctaggaa atgtagacct	780
gggtttgggg tggccagacc aggaacagaa acttctgatg tggctctgtaa gccctgtgca	840
ccaggaacct tttcaaacac taccagcagt acagacatct gcagaccca tcagatctgt	900
aatgtgggtg ccattcctgg gaatgcaagt atggatgctg tctgtacttc caccagccca	960

actagatcca tggccccagg ggcagtccac ctgccccagc ctgtcagcac tagaagccag 1020
 catactcagc ccacacctga gccttctaca gcacctcca cctctttcct gctgcctatg 1080
 gggccatcac ctccagctga gggcagtaca ggggatgaac ctaagtcatg tgacaaaacc 1140
 catacctgtc caccctgccc tgctcctgag ctgctggggg gaccagtggt cttcctgttt 1200
 cctcccaaac ctaaagatac tctgatgatc agcagaaccc cagaggtcac atgcgtggta 1260
 gtggatgtct cccatgaaga ccctgaagtg aagtttaatt ggtatgtaga tggggtggag 1320
 gtccataatg caaagaccaa gcccaggga gaacagtata acagtactta cagggtgggtg 1380
 tctgtgctga cagtactgca ccaggactgg ctgaatggga aggagtataa gtgcaaagtc 1440
 agcaataagg cactgcctgc ccctattgaa aagacaatta gtaaagctaa ggggcagccc 1500
 agggaaccac aggtctacac tctgccccct agtagagagg aaatgacaaa gaatcaggtc 1560
 agtctgacat gtctggtaa gggattctat ccaagtata ttgcagtga gtgggaaagt 1620
 aatggccagc cagagaataa ctacaagact accccccag tgctggacag tgatggatct 1680
 ttctttctgt actccaaact gactgtggat aaatcaagat ggcagcagg caatgtcttt 1740
 tctgttcag tcatgcatga agccctgcat aatcactaca ctcaagag cctgtccctg 1800
 tccccggca aatgataaaa gcttgatctt tttccctctg ccaaaaatta tggggacatc 1860
 atgaagcccc ttgagcatct gacttctggc taataaagga aatttatttt cattgcaata 1920
 gtgtgttgga attttttgtg tctctcactc g 1951

<210> 19

<211> 467

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;抗体构建体

<400> 19

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

115	120	125
Arg Pro Gly Thr Glu Thr Ser Asp Val Val Cys Lys Pro Cys Ala Pro		
130	135	140
Gly Thr Phe Ser Asn Thr Thr Ser Ser Thr Asp Ile Cys Arg Pro His		
145	150	155
Gln Ile Cys Asn Val Val Ala Ile Pro Gly Asn Ala Ser Met Asp Ala		
165	170	175
Val Cys Thr Ser Thr Ser Pro Thr Arg Ser Met Ala Pro Gly Ala Val		
180	185	190
His Leu Pro Gln Pro Val Ser Thr Arg Ser Gln His Thr Gln Pro Thr		
195	200	205
Pro Glu Pro Ser Thr Ala Pro Ser Thr Ser Phe Leu Leu Pro Met Gly		
210	215	220
Pro Ser Pro Pro Ala Glu Gly Ser Thr Gly Asp Glu Pro Lys Ser Cys		
225	230	235
Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly		
245	250	255
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
260	265	270
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
275	280	285
Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
290	295	300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr		
305	310	315
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
325	330	335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile		
340	345	350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
355	360	365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
370	375	380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
385	390	395
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
405	410	415
Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
420	425	430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460
 Pro Gly Lys
 465
 <210> 20
 <211> 400
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体;抗体构建体
 <400> 20
 Met Gly Leu Ser Thr Val Pro Asp Leu Leu Leu Pro Leu Val Leu Leu
 1 5 10 15
 Glu Leu Leu Val Gly Ile Tyr Pro Ser Gly Val Ile Gly Leu Val Pro
 20 25 30
 His Leu Gly Asp Arg Glu Lys Arg Asp Ser Val Cys Pro Gln Gly Lys
 35 40 45
 Tyr Ile His Pro Gln Asn Asn Ser Ile Cys Cys Thr Lys Cys His Lys
 50 55 60
 Gly Thr Tyr Leu Tyr Asn Asp Cys Pro Gly Pro Gly Gln Asp Thr Asp
 65 70 75 80
 Cys Arg Glu Cys Glu Ser Gly Ser Phe Thr Ala Ser Glu Asn His Leu
 85 90 95
 Arg His Cys Leu Ser Cys Ser Lys Cys Arg Lys Glu Met Gly Gln Val
 100 105 110
 Glu Ile Ser Ser Cys Thr Val Asp Arg Asp Thr Val Cys Gly Cys Arg
 115 120 125
 Lys Asn Gln Tyr Arg His Tyr Trp Ser Glu Asn Leu Phe Gln Cys Phe
 130 135 140
 Asn Cys Ser Leu Cys Leu Asn Gly Thr Val His Leu Ser Cys Gln Glu
 145 150 155 160
 Lys Gln Asn Thr Val Cys Thr Cys His Ala Gly Phe Phe Leu Arg Glu
 165 170 175
 Asn Glu Cys Val Ser Cys Ser Asn Cys Lys Lys Ser Leu Glu Cys Thr
 180 185 190
 Lys Leu Cys Leu Pro Gln Ile Glu Asn Val Lys Gly Thr Glu Asp Ser
 195 200 205

Gly Thr Thr Leu Val Pro Arg Gly Ser Asp Lys Thr His Thr Cys Pro
 210 215 220
 Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240
 Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 245 250 255
 Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe
 260 265 270
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 275 280 285
 Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 290 295 300
 Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 305 310 315 320
 Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 325 330 335
 Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg
 340 345 350
 Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 355 360 365
 Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 370 375 380
 Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 385 390 395 400

<210> 21

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;铰链

<400> 21

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly
 1 5 10 15

Gly

<210> 22

<211> 736

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 22

Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Ser
1				5					10					15	
Glu	Gly	Ile	Arg	Glu	Trp	Trp	Asp	Leu	Lys	Pro	Gly	Ala	Pro	Lys	Pro
			20					25					30		
Lys	Ala	Asn	Gln	Gln	Lys	Gln	Asp	Asp	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
		35					40					45			
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
	50					55					60				
Val	Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
65				70					75					80	
Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala
				85					90					95	
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
			100					105					110		
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro
		115					120					125			
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
	130					135					140				
Pro	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Ile	Gly
145				150					155					160	
Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr
			165						170				175		
Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Glu	Pro	Pro
			180				185					190			
Ala	Thr	Pro	Ala	Ala	Val	Gly	Pro	Thr	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly
		195					200					205			
Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala
	210					215					220				
Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile
225				230					235					240	
Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu
			245						250				255		
Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His
		260						265				270			
Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe
	275						280				285				
His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn

290	295	300
Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln		
305	310	315
Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn Asn		
	325	330
Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro		
	340	345
Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala		
	355	360
Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly		
370	375	380
Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro		
385	390	395
Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe		
	405	410
Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp		
	420	425
Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg		
435	440	445
Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser		
450	455	460
Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro		
465	470	475
Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn		
	485	490
Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn		
	500	505
Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys		
	515	520
Asp Asp Glu Asp Lys Phe Phe Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly		
530	535	540
Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile		
545	550	555
Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg		
	565	570
Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Phe Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala		
	580	585
Thr Gly Asp Val His Ala Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln		
595	600	605

Asp	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His
610						615					620				
Thr	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu
625					630					635					640
Lys	Asn	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala
				645					650					655	
Asn	Pro	Pro	Ala	Glu	Phe	Ser	Ala	Thr	Lys	Phe	Ala	Ser	Phe	Ile	Thr
			660					665					670		
Gln	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln
		675					680					685			
Lys	Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Val	Gln	Tyr	Thr	Ser	Asn
	690					695					700				
Tyr	Ala	Lys	Ser	Ala	Asn	Val	Asp	Phe	Thr	Val	Asp	Asn	Asn	Gly	Leu
705					710					715					720
Tyr	Thr	Glu	Pro	Arg	Pro	Ile	Gly	Thr	Arg	Tyr	Leu	Thr	Arg	Pro	Leu
				725					730					735	

<210> 23

<211> 735

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 23

Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	Ser
1			5					10					15		
Glu	Gly	Ile	Arg	Gln	Trp	Trp	Lys	Leu	Lys	Pro	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro
		20					25					30			
Lys	Pro	Ala	Glu	Arg	His	Lys	Asp	Asp	Ser	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
	35					40					45				
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
	50				55					60					
Val	Asn	Glu	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
65				70					75					80	
Arg	Gln	Leu	Asp	Ser	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala
			85					90					95		
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
		100					105					110			
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro
	115						120					125			

Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg		
130	135	140
Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly		
145	150	155 160
Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr		
	165	170 175
Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro		
	180	185 190
Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn Thr Met Ala Thr Gly Ser Gly		
	195	200 205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser		
	210	215 220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Met Gly Asp Arg Val Ile		
225	230	235 240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu		
	245	250 255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr		
	260	265 270
Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His		
	275	280 285
Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp		
	290	295 300
Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val		
305	310	315 320
Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu		
	325	330 335
Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr		
	340	345 350
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp		
	355	360 365
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser		
	370	375 380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser		
385	390	395 400
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu		
	405	410 415
Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg		
	420	425 430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr		

435	440	445
Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln		
450	455	460
Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly		
465	470	475
Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn		480
485	490	495
Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly		
500	505	510
Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp		
515	520	525
Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys		
530	535	540
Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr		
545	550	555
Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr		
565	570	575
Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr		
580	585	590
Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp		
595	600	605
Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr		
610	615	620
Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys		
625	630	635
His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn		640
645	650	655
Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln		
660	665	670
Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys		
675	680	685
Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr		
690	695	700
Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr		
705	710	715
Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu		720
725	730	735
<210> 24		
<211> 736		

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 24

```

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
1           5           10           15
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Val Pro Gln Pro
           20           25           30
Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Arg Arg Gly Leu Val Leu Pro
           35           40           45
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
           50           55           60
Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65           70           75           80
Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
           85           90           95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
           100          105          110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Ile Leu Glu Pro
           115          120          125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Gly
           130          135          140
Ala Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly
145          150          155          160
Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
           165          170          175
Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro
           180          185          190
Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly
           195          200          205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser
           210          215          220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
225          230          235          240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
           245          250          255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr
           260          265          270

```

Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His		
275	280	285
Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp		
290	295	300
Gly Phe Arg Pro Lys Lys Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val		
305	310	315
Arg Gly Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu		
	325	330
Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr		
	340	345
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp		
	355	360
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser		
370	375	380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser		
385	390	395
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu		
	405	410
Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg		
	420	425
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr		
	435	440
Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln Ser Arg Leu Leu Phe Ser		
450	455	460
Gln Ala Gly Pro Gln Ser Met Ser Leu Gln Ala Arg Asn Trp Leu Pro		
465	470	475
Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser Lys Thr Ala Asn Asp Asn		
	485	490
Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala Ser Lys Tyr His Leu Asn		
	500	505
Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys		
	515	520
Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His Gly Asn Leu Ile Phe Gly		
530	535	540
Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu Leu Asp Asn Val Met Ile		
545	550	555
Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln		
	565	570
Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro Thr		

580	585	590
Thr Gly Thr Val Asn His Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln		
595	600	605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His		
610	615	620
Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu		
625	630	635
Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala		
645	650	655
Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr		
660	665	670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln		
675	680	685
Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn		
690	695	700
Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val		
705	710	715
Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu		
725	730	735

<210> 25

<211> 736

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 25

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

100	105	110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Ile Leu Glu Pro		
115	120	125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Gly		
130	135	140
Ala Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly		
145	150	155
Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr		
165	170	175
Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro		
180	185	190
Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly		
195	200	205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser		
210	215	220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile		
225	230	235
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu		
245	250	255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr		
260	265	270
Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His		
275	280	285
Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp		
290	295	300
Gly Phe Arg Pro Lys Lys Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val		
305	310	315
Arg Gly Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu		
325	330	335
Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr		
340	345	350
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp		
355	360	365
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser		
370	375	380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser		
385	390	395
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Thr Phe Glu		
405	410	415

Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg		
420	425	430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg Thr		
435	440	445
Gln Gly Thr Thr Ser Gly Thr Thr Asn Gln Ser Arg Leu Leu Phe Ser		
450	455	460
Gln Ala Gly Pro Gln Ser Met Ser Leu Gln Ala Arg Asn Trp Leu Pro		
465	470	475
Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Leu Ser Lys Thr Ala Asn Asp Asn		
485	490	495
Asn Asn Ser Asn Phe Pro Trp Thr Ala Ala Ser Lys Tyr His Leu Asn		
500	505	510
Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys		
515	520	525
Asp Asp Glu Glu Lys Phe Phe Pro Met His Gly Asn Leu Ile Phe Gly		
530	535	540
Lys Glu Gly Thr Thr Ala Ser Asn Ala Glu Leu Asp Asn Val Met Ile		
545	550	555
Thr Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln		
565	570	575
Tyr Gly Thr Val Ala Asn Asn Leu Gln Ser Ser Asn Thr Ala Pro Thr		
580	585	590
Thr Gly Thr Val Asn His Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln		
595	600	605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His		
610	615	620
Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu		
625	630	635
Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala		
645	650	655
Asn Pro Pro Thr Thr Phe Ser Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr		
660	665	670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln		
675	680	685
Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn		
690	695	700
Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val		
705	710	715
Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu		

	725	730	735
<210>	26		
<211>	736		
<212>	PRT		
<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	合成构建体;AAV载体		
<400>	26		
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser			
1	5	10	15
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Val Pro Gln Pro			
	20	25	30
Lys Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Arg Arg Gly Leu Val Leu Pro			
	35	40	45
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro			
	50	55	60
Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp			
65	70	75	80
Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala			
	85	90	95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly			
	100	105	110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Ile Leu Glu Pro			
	115	120	125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg			
	130	135	140
Pro Val Asp Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Val Gly			
145	150	155	160
Lys Ser Gly Lys Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr			
	165	170	175
Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro			
	180	185	190
Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Asn Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly			
	195	200	205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser			
	210	215	220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile			
225	230	235	240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu			

				245					250					255			
Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Gln	Ser	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	Tyr		
				260					265					270			
Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	His		
				275					280					285			
Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	Trp		
				290					295					300			
Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Lys	Leu	Ser	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	Val		
305						310				315					320		
Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Asp	Gly	Thr	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	Leu		
				325					330					335			
Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr		
				340					345					350			
Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala	Asp		
				355					360					365			
Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser		
				370					375					380			
Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser		
385						390				395					400		
Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Gln	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu		
				405					410					415			
Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg		
				420					425					430			
Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Arg	Thr		
				435					440					445			
Gln	Gly	Thr	Thr	Ser	Gly	Thr	Thr	Asn	Gln	Ser	Arg	Leu	Leu	Phe	Ser		
				450					455					460			
Gln	Ala	Gly	Pro	Gln	Ser	Met	Ser	Leu	Gln	Ala	Arg	Asn	Trp	Leu	Pro		
465						470				475					480		
Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Leu	Ser	Lys	Thr	Ala	Asn	Asp	Asn		
				485					490					495			
Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Pro	Trp	Thr	Ala	Ala	Ser	Lys	Tyr	His	Leu	Asn		
				500					505					510			
Gly	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys		
				515					520					525			
Asp	Asp	Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Met	His	Gly	Asn	Leu	Ile	Phe	Gly		
				530					535					540			
Lys	Glu	Gly	Thr	Thr	Ala	Ser	Asn	Ala	Glu	Leu	Asp	Asn	Val	Met	Ile		
545						550				555					560		

Thr	Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Gln		
565						570					575						
Tyr	Gly	Thr	Val	Ala	Asn	Asn	Leu	Gln	Ser	Ser	Asn	Thr	Ala	Pro	Thr		
580						585					590						
Thr	Arg	Thr	Val	Asn	Asp	Gln	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln		
595						600					605						
Asp	Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His		
610						615					620						
Thr	Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu		
625						630					635					640	
Lys	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Met	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala		
645						650					655						
Asn	Pro	Pro	Thr	Thr	Phe	Ser	Pro	Ala	Lys	Phe	Ala	Ser	Phe	Ile	Thr		
660						665					670						
Gln	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln		
675						680					685						
Lys	Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Ile	Gln	Tyr	Thr	Ser	Asn		
690						695					700						
Tyr	Asn	Lys	Ser	Val	Asn	Val	Asp	Phe	Thr	Val	Asp	Thr	Asn	Gly	Val		
705						710					715					720	
Tyr	Ser	Glu	Pro	Arg	Pro	Ile	Gly	Thr	Arg	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asn	Leu		
725						730					735						

<210> 27

<211> 734

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 27

Met	Thr	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Ser	Glu		
1	5				10					15							
Gly	Val	Arg	Glu	Trp	Trp	Ala	Leu	Gln	Pro	Gly	Ala	Pro	Lys	Pro	Lys		
20						25					30						
Ala	Asn	Gln	Gln	His	Gln	Asp	Asn	Ala	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro	Gly		
35						40					45						
Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Gly	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro	Val		
50						55					60						
Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp	Gln		
65						70					75					80	

Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala	Asp
85				90				95							
Ala	Glu	Phe	Gln	Gln	Arg	Leu	Gln	Gly	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly	Asn
100				105				110							
Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro	Leu
115				120				125							
Gly	Leu	Val	Glu	Gln	Ala	Gly	Glu	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg	Pro
130				135				140							
Leu	Ile	Glu	Ser	Pro	Gln	Gln	Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile	Gly	Lys
145				150				155				160			
Lys	Gly	Lys	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Lys	Leu	Val	Phe	Glu	Asp	Glu	Thr
165				170				175							
Gly	Ala	Gly	Asp	Gly	Pro	Pro	Glu	Gly	Ser	Thr	Ser	Gly	Ala	Met	Ser
180				185				190							
Asp	Asp	Ser	Glu	Met	Arg	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Ala	Ala	Val	Glu	Gly
195				200				205							
Gly	Gln	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ala	Ser	Gly	Asp	Trp	His	Cys
210				215				220							
Asp	Ser	Thr	Trp	Ser	Glu	Gly	His	Val	Thr	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr
225				230				235				240			
Trp	Val	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu	Tyr	Lys	Arg	Leu	Gly	Glu
245				250				255							
Ser	Leu	Gln	Ser	Asn	Thr	Tyr	Asn	Gly	Phe	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr
260				265				270							
Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln
275				280				285							
Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	Trp	Gly	Met	Arg	Pro	Lys	Ala	Met	Arg	Val
290				295				300							
Lys	Ile	Phe	Asn	Ile	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Thr	Ser	Asn	Gly	Glu
305				310				315				320			
Thr	Thr	Val	Ala	Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Ile	Phe	Ala	Asp
325				330				335							
Ser	Ser	Tyr	Glu	Leu	Pro	Tyr	Val	Met	Asp	Ala	Gly	Gln	Glu	Gly	Ser
340				345				350							
Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Asn	Asp	Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr
355				360				365							
Cys	Gly	Leu	Val	Thr	Gly	Asn	Thr	Ser	Gln	Gln	Gln	Thr	Asp	Arg	Asn
370				375				380							
Ala	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly

385	390	395	400
Asn Asn Phe Glu Ile Thr Tyr Ser Phe Glu Lys Val Pro Phe His Ser			
	405	410	415
Met Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile			
	420	425	430
Asp Gln Tyr Leu Trp Gly Leu Gln Ser Thr Thr Thr Gly Thr Thr Leu			
	435	440	445
Asn Ala Gly Thr Ala Thr Thr Asn Phe Thr Lys Leu Arg Pro Thr Asn			
	450	455	460
Phe Ser Asn Phe Lys Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Ser Ile Lys Gln			
465	470	475	480
Gln Gly Phe Ser Lys Thr Ala Asn Gln Asn Tyr Lys Ile Pro Ala Thr			
	485	490	495
Gly Ser Asp Ser Leu Ile Lys Tyr Glu Thr His Ser Thr Leu Asp Gly			
	500	505	510
Arg Trp Ser Ala Leu Thr Pro Gly Pro Pro Met Ala Thr Ala Gly Pro			
	515	520	525
Ala Asp Ser Lys Phe Ser Asn Ser Gln Leu Ile Phe Ala Gly Pro Lys			
	530	535	540
Gln Asn Gly Asn Thr Ala Thr Val Pro Gly Thr Leu Ile Phe Thr Ser			
545	550	555	560
Glu Glu Glu Leu Ala Ala Thr Asn Ala Thr Asp Thr Asp Met Trp Gly			
	565	570	575
Asn Leu Pro Gly Gly Asp Gln Ser Asn Ser Asn Leu Pro Thr Val Asp			
	580	585	590
Arg Leu Thr Ala Leu Gly Ala Val Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg			
	595	600	605
Asp Ile Tyr Tyr Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp			
	610	615	620
Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Ile Gly Gly Phe Gly Leu Lys His			
625	630	635	640
Pro Pro Pro Gln Ile Phe Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro			
	645	650	655
Ala Thr Thr Phe Ser Ser Thr Pro Val Asn Ser Phe Ile Thr Gln Tyr			
	660	665	670
Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Gln Ile Asp Trp Glu Ile Gln Lys Glu			
	675	680	685
Arg Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Phe Thr Ser Asn Tyr Gly			
	690	695	700

Gln Gln Asn Ser Leu Leu Trp Ala Pro Asp Ala Ala Gly Lys Tyr Thr
 705 710 715 720
 Glu Pro Arg Ala Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr His His Leu
 725 730
 <210> 28
 <211> 734
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体;AAV载体
 <400> 28
 Met Thr Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser Glu
 1 5 10 15
 Gly Val Arg Glu Trp Trp Ala Leu Gln Pro Gly Ala Pro Lys Pro Lys
 20 25 30
 Ala Asn Gln Gln His Gln Asp Asn Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro Gly
 35 40 45
 Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro Val
 50 55 60
 Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp Gln
 65 70 75 80
 Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala Asp
 85 90 95
 Ala Glu Phe Gln Gln Arg Leu Gln Gly Asp Thr Ser Phe Gly Gly Asn
 100 105 110
 Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro Leu
 115 120 125
 Gly Leu Val Glu Gln Ala Gly Glu Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg Pro
 130 135 140
 Leu Ile Glu Ser Pro Gln Gln Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile Gly Lys
 145 150 155 160
 Lys Gly Lys Gln Pro Ala Lys Lys Lys Leu Val Phe Glu Asp Glu Thr
 165 170 175
 Gly Ala Gly Asp Gly Pro Pro Glu Gly Ser Thr Ser Gly Ala Met Ser
 180 185 190
 Asp Asp Ser Glu Met Arg Ala Ala Ala Gly Gly Ala Ala Val Glu Gly
 195 200 205
 Gly Gln Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala Ser Gly Asp Trp His Cys
 210 215 220

Asp Ser Thr Trp Ser Glu Gly His Val Thr Thr Thr Ser Thr Arg Thr			
225	230	235	240
Trp Val Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu Tyr Lys Arg Leu Gly Glu			
	245	250	255
Ser Leu Gln Ser Asn Thr Tyr Asn Gly Phe Ser Thr Pro Trp Gly Tyr			
	260	265	270
Phe Asp Phe Asn Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln			
	275	280	285
Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp Gly Met Arg Pro Lys Ala Met Arg Val			
	290	295	300
Lys Ile Phe Asn Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Ser Asn Gly Glu			
305	310	315	320
Thr Thr Val Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Ile Phe Ala Asp			
	325	330	335
Ser Ser Tyr Glu Leu Pro Tyr Val Met Asp Ala Gly Gln Glu Gly Ser			
	340	345	350
Leu Pro Pro Phe Pro Asn Asp Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr			
	355	360	365
Cys Gly Leu Val Thr Gly Asn Thr Ser Gln Gln Gln Thr Asp Arg Asn			
	370	375	380
Ala Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly			
385	390	395	400
Asn Asn Phe Glu Ile Thr Tyr Ser Phe Glu Lys Val Pro Phe His Ser			
	405	410	415
Met Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile			
	420	425	430
Asp Gln Tyr Leu Trp Gly Leu Gln Ser Thr Thr Thr Gly Thr Thr Leu			
	435	440	445
Asn Ala Gly Thr Ala Thr Thr Asn Phe Thr Lys Leu Arg Pro Thr Asn			
	450	455	460
Phe Ser Asn Phe Lys Lys Asn Trp Leu Pro Gly Pro Ser Ile Lys Gln			
465	470	475	480
Gln Gly Phe Ser Lys Thr Ala Asn Gln Asn Tyr Lys Ile Pro Ala Thr			
	485	490	495
Gly Ser Asp Ser Leu Ile Lys Tyr Glu Thr His Ser Thr Leu Asp Gly			
	500	505	510
Arg Trp Ser Ala Leu Thr Pro Gly Pro Pro Met Ala Thr Ala Gly Pro			
	515	520	525
Ala Asp Ser Lys Phe Ser Asn Ser Gln Leu Ile Phe Ala Gly Pro Lys			

530	535	540
Gln Asn Gly Asn Thr Ala Thr Val Pro Gly Thr Leu Ile Phe Thr Ser		
545	550	555
Glu Glu Glu Leu Ala Ala Thr Asn Ala Thr Asp Thr Asp Met Trp Gly		
565	570	575
Asn Leu Pro Gly Gly Asp Gln Ser Asn Ser Asn Leu Pro Thr Val Asp		
580	585	590
Arg Leu Thr Ala Leu Gly Ala Val Pro Gly Met Val Trp Gln Asn Arg		
595	600	605
Asp Ile Tyr Tyr Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp		
610	615	620
Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Ile Gly Gly Phe Gly Leu Lys His		
625	630	635
Pro Pro Pro Gln Ile Phe Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro		
645	650	655
Ala Thr Thr Phe Ser Ser Thr Pro Val Asn Ser Phe Ile Thr Gln Tyr		
660	665	670
Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Gln Ile Asp Trp Glu Ile Gln Lys Glu		
675	680	685
Arg Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Phe Thr Ser Asn Tyr Gly		
690	695	700
Gln Gln Asn Ser Leu Leu Trp Ala Pro Asp Ala Ala Gly Lys Tyr Thr		
705	710	715
Glu Pro Arg Ala Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr His His Leu		
725	730	
<210>	29	
<211>	724	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;AAV载体	
<400>	29	
Met Ser Phe Val Asp His Pro Pro Asp Trp Leu Glu Glu Val Gly Glu		
1	5	10
Gly Leu Arg Glu Phe Leu Gly Leu Glu Ala Gly Pro Pro Lys Pro Lys		
20	25	30
Pro Asn Gln Gln His Gln Asp Gln Ala Arg Gly Leu Val Leu Pro Gly		
35	40	45
Tyr Asn Tyr Leu Gly Pro Gly Asn Gly Leu Asp Arg Gly Glu Pro Val		

50	55	60
Asn Arg Ala Asp Glu Val	Ala Arg Glu His Asp Ile Ser Tyr Asn Glu	
65	70	75
Gln Leu Glu Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala Asp		80
85	90	95
Ala Glu Phe Gln Glu Lys Leu Ala Asp Asp Thr Ser Phe Gly Gly Asn		
100	105	110
Leu Gly Lys Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro Phe		
115	120	125
Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Thr Gly Lys Arg Ile		
130	135	140
Asp Asp His Phe Pro Lys Arg Lys Lys Ala Arg Thr Glu Glu Asp Ser		
145	150	155
Lys Pro Ser Thr Ser Ser Asp Ala Glu Ala Gly Pro Ser Gly Ser Gln		
165	170	175
Gln Leu Gln Ile Pro Ala Gln Pro Ala Ser Ser Leu Gly Ala Asp Thr		
180	185	190
Met Ser Ala Gly Gly Gly Gly Pro Leu Gly Asp Asn Asn Gln Gly Ala		
195	200	205
Asp Gly Val Gly Asn Ala Ser Gly Asp Trp His Cys Asp Ser Thr Trp		
210	215	220
Met Gly Asp Arg Val Val Thr Lys Ser Thr Arg Thr Trp Val Leu Pro		
225	230	235
Ser Tyr Asn Asn His Gln Tyr Arg Glu Ile Lys Ser Gly Ser Val Asp		
245	250	255
Gly Ser Asn Ala Asn Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr		
260	265	270
Phe Asp Phe Asn Arg Phe His Ser His Trp Ser Pro Arg Asp Trp Gln		
275	280	285
Arg Leu Ile Asn Asn Tyr Trp Gly Phe Arg Pro Arg Ser Leu Arg Val		
290	295	300
Lys Ile Phe Asn Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Val Gln Asp Ser Thr		
305	310	315
Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp		
325	330	335
Asp Asp Tyr Gln Leu Pro Tyr Val Val Gly Asn Gly Thr Glu Gly Cys		
340	345	350
Leu Pro Ala Phe Pro Pro Gln Val Phe Thr Leu Pro Gln Tyr Gly Tyr		
355	360	365

Ala Thr Leu Asn Arg Asp Asn Thr Glu Asn Pro Thr Glu Arg Ser Ser			
370	375	380	
Phe Phe Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser Lys Met Leu Arg Thr Gly Asn			
385	390	395	400
Asn Phe Glu Phe Thr Tyr Asn Phe Glu Glu Val Pro Phe His Ser Ser			
	405	410	415
Phe Ala Pro Ser Gln Asn Leu Phe Lys Leu Ala Asn Pro Leu Val Asp			
	420	425	430
Gln Tyr Leu Tyr Arg Phe Val Ser Thr Asn Asn Thr Gly Gly Val Gln			
	435	440	445
Phe Asn Lys Asn Leu Ala Gly Arg Tyr Ala Asn Thr Tyr Lys Asn Trp			
	450	455	460
Phe Pro Gly Pro Met Gly Arg Thr Gln Gly Trp Asn Leu Gly Ser Gly			
465	470	475	480
Val Asn Arg Ala Ser Val Ser Ala Phe Ala Thr Thr Asn Arg Met Glu			
	485	490	495
Leu Glu Gly Ala Ser Tyr Gln Val Pro Pro Gln Pro Asn Gly Met Thr			
	500	505	510
Asn Asn Leu Gln Gly Ser Asn Thr Tyr Ala Leu Glu Asn Thr Met Ile			
	515	520	525
Phe Asn Ser Gln Pro Ala Asn Pro Gly Thr Thr Ala Thr Tyr Leu Glu			
	530	535	540
Gly Asn Met Leu Ile Thr Ser Glu Ser Glu Thr Gln Pro Val Asn Arg			
545	550	555	560
Val Ala Tyr Asn Val Gly Gly Gln Met Ala Thr Asn Asn Gln Ser Ser			
	565	570	575
Thr Thr Ala Pro Ala Thr Gly Thr Tyr Asn Leu Gln Glu Ile Val Pro			
	580	585	590
Gly Ser Val Trp Met Glu Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp			
	595	600	605
Ala Lys Ile Pro Glu Thr Gly Ala His Phe His Pro Ser Pro Ala Met			
	610	615	620
Gly Gly Phe Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Met Met Leu Ile Lys Asn			
625	630	635	640
Thr Pro Val Pro Gly Asn Ile Thr Ser Phe Ser Asp Val Pro Val Ser			
	645	650	655
Ser Phe Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Thr Val Glu Met Glu			
	660	665	670
Trp Glu Leu Lys Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln			

675	680	685
Tyr Thr Asn Asn Tyr Asn Asp	Pro Gln Phe Val Asp Phe Ala Pro Asp	
690	695	700
Ser Thr Gly Glu Tyr Arg Thr Thr Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu		
705	710	715
720		
Thr Arg Pro Leu		
<210>	30	
<211>	736	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;AAV载体	
<400>	30	
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser		
1	5	10
15		
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro		
20	25	30
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro		
35	40	45
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro		
50	55	60
65	70	75
80		
Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala		
85	90	95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly		
100	105	110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro		
115	120	125
Phe Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg		
130	135	140
Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Ile Gly		
145	150	155
160		
Lys Thr Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr		
165	170	175
Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro Pro		
180	185	190
Ala Thr Pro Ala Ala Val Gly Pro Thr Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly		
195	200	205

Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ala			
210	215	220	
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile			
225	230	235	240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu			
	245	250	255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Ala Ser Thr Gly Ala Ser Asn Asp Asn His			
	260	265	270
Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe			
	275	280	285
His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn			
	290	295	300
Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln			
305	310	315	320
Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn Asn			
	325	330	335
Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro			
	340	345	350
Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala			
	355	360	365
Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly			
	370	375	380
Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro			
385	390	395	400
Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe			
	405	410	415
Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp			
	420	425	430
Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Asn Arg			
	435	440	445
Thr Gln Asn Gln Ser Gly Ser Ala Gln Asn Lys Asp Leu Leu Phe Ser			
	450	455	460
Arg Gly Ser Pro Ala Gly Met Ser Val Gln Pro Lys Asn Trp Leu Pro			
465	470	475	480
Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Lys Thr Asp Asn			
	485	490	495
Asn Asn Ser Asn Phe Thr Trp Thr Gly Ala Ser Lys Tyr Asn Leu Asn			
	500	505	510
Gly Arg Glu Ser Ile Ile Asn Pro Gly Thr Ala Met Ala Ser His Lys			

515	520	525
Asp Asp Lys Asp Lys Phe Phe	Pro Met Ser Gly Val Met Ile Phe Gly	
530	535	540
Lys Glu Ser Ala Gly Ala Ser Asn Thr Ala Leu Asp Asn Val Met Ile		
545	550	555
Thr Asp Glu Glu Glu Ile Lys Ala Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Arg		
565	570	575
Phe Gly Thr Val Ala Val Asn Leu Gln Ser Ser Ser Thr Asp Pro Ala		
580	585	590
Thr Gly Asp Val His Val Met Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln		
595	600	605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His		
610	615	620
Thr Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu		
625	630	635
Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala		
645	650	655
Asn Pro Pro Ala Glu Phe Ser Ala Thr Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr		
660	665	670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln		
675	680	685
Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Val Gln Tyr Thr Ser Asn		
690	695	700
Tyr Ala Lys Ser Ala Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Asn Asn Gly Leu		
705	710	715
Tyr Thr Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Pro Leu		
725	730	735

<210> 31

<211> 737

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 31

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser		
1	5	10
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro		
20	25	30
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asn Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro		

35	40	45
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro		
50	55	60
Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp		
65	70	75
Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala		
85	90	95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly		
100	105	110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro		
115	120	125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Ala Lys Lys Arg		
130	135	140
Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile		
145	150	155
Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln		
165	170	175
Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro		
180	185	190
Pro Ala Ala Pro Ser Ser Val Gly Ser Gly Thr Val Ala Ala Gly Gly		
195	200	205
Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn		
210	215	220
Ala Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val		
225	230	235
Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His		
245	250	255
Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Glu Thr Ala Gly Ser Thr Asn Asp Asn		
260	265	270
Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg		
275	280	285
Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn		
290	295	300
Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Lys Leu Arg Phe Lys Leu Phe Asn Ile		
305	310	315
Gln Val Lys Glu Val Thr Thr Asn Asp Gly Val Thr Thr Ile Ala Asn		
325	330	335
Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Ser Asp Ser Glu Tyr Gln Leu		
340	345	350

Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro		
355	360	365
Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn		
370	375	380
Gly Ser Gln Ser Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe		
385	390	400
Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Glu Phe Ser Tyr Ser		
405	410	415
Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu		
420	425	430
Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ala		
435	440	445
Arg Thr Gln Ser Asn Pro Gly Gly Thr Ala Gly Asn Arg Glu Leu Gln		
450	455	460
Phe Tyr Gln Gly Gly Pro Ser Thr Met Ala Glu Gln Ala Lys Asn Trp		
465	470	480
Leu Pro Gly Pro Cys Phe Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Leu Asp		
485	490	495
Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His		
500	505	510
Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr		
515	520	525
His Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Val Leu Ile		
530	535	540
Phe Gly Lys Thr Gly Ala Thr Asn Lys Thr Thr Leu Glu Asn Val Leu		
545	550	560
Met Thr Asn Glu Glu Glu Ile Arg Pro Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu		
565	570	575
Glu Tyr Gly Ile Val Ser Ser Asn Leu Gln Ala Ala Asn Thr Ala Ala		
580	585	590
Gln Thr Gln Val Val Asn Asn Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp		
595	600	605
Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro		
610	615	620
His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly		
625	630	640
Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro		
645	650	655
Ala Asn Pro Pro Glu Val Phe Thr Pro Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile		

660	665	670
Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu		
675	680	685
Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser		
690	695	700
Asn Phe Glu Lys Gln Thr Gly Val Asp Phe Ala Val Asp Ser Gln Gly		
705	710	715
Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn		
725	730	735
Leu		
<210> 32		
<211> 738		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;AAV载体		
<400> 32		
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser		
1 5 10 15		
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro		
20 25 30		
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro		
35 40 45		
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro		
50 55 60		
Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp		
65 70 75 80		
Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala		
85 90 95		
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly		
100 105 110		
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro		
115 120 125		
Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg		
130 135 140		
Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile		
145 150 155 160		
Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln		
165 170 175		

Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro		
180	185	190
Pro Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Pro Asn Thr Met Ala Ala Gly Gly		
195	200	205
Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser		
210	215	220
Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val		
225	230	235
Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His		
245	250	255
Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Gly Thr Ser Gly Gly Ala Thr Asn Asp		
260	265	270
Asn Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn		
275	280	285
Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn		
290	295	300
Asn Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn		
305	310	315
Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala		
325	330	335
Asn Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln		
340	345	350
Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe		
355	360	365
Pro Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn		
370	375	380
Asn Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr		
385	390	395
Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Thr Tyr		
405	410	415
Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser		
420	425	430
Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu		
435	440	445
Ser Arg Thr Gln Thr Thr Gly Gly Thr Ala Asn Thr Gln Thr Leu Gly		
450	455	460
Phe Ser Gln Gly Gly Pro Asn Thr Met Ala Asn Gln Ala Lys Asn Trp		
465	470	475
Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Thr Gly		

	485	490	495
Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Ala Gly Thr Lys Tyr His			
500	505	510	
Leu Asn Gly Arg Asn Ser Leu Ala Asn Pro Gly Ile Ala Met Ala Thr			
515	520	525	
His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Asn Gly Ile Leu Ile			
530	535	540	
Phe Gly Lys Gln Asn Ala Ala Arg Asp Asn Ala Asp Tyr Ser Asp Val			
545	550	555	560
Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr			
565	570	575	
Glu Glu Tyr Gly Ile Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Thr Ala			
580	585	590	
Pro Gln Ile Gly Thr Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val			
595	600	605	
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile			
610	615	620	
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe			
625	630	635	640
Gly Leu Lys His Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val			
645	650	655	
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Asn Gln Ser Lys Leu Asn Ser Phe			
660	665	670	
Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu			
675	680	685	
Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr			
690	695	700	
Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Ser Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu			
705	710	715	720
Gly Val Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg			
725	730	735	

Asn Leu

<210> 33

<211> 736

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 33

Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Ser
1				5					10					15	
Glu	Gly	Ile	Arg	Glu	Trp	Trp	Ala	Leu	Lys	Pro	Gly	Ala	Pro	Gln	Pro
			20					25					30		
Lys	Ala	Asn	Gln	Gln	His	Gln	Asp	Asn	Ala	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
		35					40					45			
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Gly	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
	50					55					60				
Val	Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
65				70						75				80	
Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala
				85					90					95	
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
			100					105					110		
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Leu	Glu	Pro
		115					120					125			
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Ala	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
	130					135					140				
Pro	Val	Glu	Gln	Ser	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ala	Gly	Ile	Gly
145				150					155					160	
Lys	Ser	Gly	Ala	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr
			165					170					175		
Gly	Asp	Thr	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Ile	Gly	Glu	Pro	Pro
		180					185					190			
Ala	Ala	Pro	Ser	Gly	Val	Gly	Ser	Leu	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Gly	Gly
	195					200					205				
Ala	Pro	Val	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Ser	Ser
	210				215					220					
Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Gln	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile
225				230				235					240		
Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu
			245				250					255			
Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Asn	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Ser	Asn	Asp	Asn
		260				265					270				
Ala	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg
	275					280					285				
Phe	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn
	290				295				300						
Asn	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile

305	310	315	320
Gln Val Lys Glu Val Thr Asp Asn Asn Gly Val Lys Thr Ile Ala Asn			
	325	330	335
Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Asp Tyr Gln Leu			
	340	345	350
Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro			
	355	360	365
Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp			
	370	375	380
Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe			
385	390	395	400
Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Glu			
	405	410	415
Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu			
	420	425	430
Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser			
	435	440	445
Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln Thr Leu Lys Phe Ser			
	450	455	460
Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly Arg Asn Tyr Ile Pro			
465	470	475	480
Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Val Thr Gln Asn			
	485	490	495
Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn			
	500	505	510
Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys			
	515	520	525
Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly			
	530	535	540
Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile			
545	550	555	560
Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser			
	565	570	575
Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Ala Gln Ala Gln Ala Gln			
	580	585	590
Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln			
	595	600	605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His			
610	615	620	

Thr	Asp	Gly	Asn	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Met
625						630				635					640
Lys	His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Leu	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala
					645					650					655
Asp	Pro	Pro	Thr	Ala	Phe	Asn	Lys	Asp	Lys	Leu	Asn	Ser	Phe	Ile	Thr
					660					665					670
Gln	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln
					675					680					685
Lys	Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Ile	Gln	Tyr	Thr	Ser	Asn
					690					695					700
Tyr	Tyr	Lys	Ser	Asn	Asn	Val	Glu	Phe	Ala	Val	Asn	Thr	Glu	Gly	Val
705					710					715					720
Tyr	Ser	Glu	Pro	Arg	Pro	Ile	Gly	Thr	Arg	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asn	Leu
					725					730					735

<210> 34

<211> 736

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 34

Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Ser
1				5					10					15	
Glu	Gly	Ile	Arg	Glu	Trp	Trp	Ala	Leu	Lys	Pro	Gly	Ala	Pro	Gln	Pro
				20				25					30		
Lys	Ala	Asn	Gln	Gln	His	Gln	Asp	Asn	Ala	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
				35				40				45			
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Gly	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
				50				55				60			
Val	Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
65				70						75					80
Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala
				85						90					95
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
				100						105				110	
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Leu	Glu	Pro
				115						120				125	
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Ala	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
				130						135					140

Pro Val Glu Gln Ser Pro Gln Glu Pro Asp Ser Ser Ala Gly Ile Gly			
145	150	155	160
Lys Ser Gly Ala Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr			
	165	170	175
Gly Asp Thr Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro Pro			
	180	185	190
Ala Ala Pro Ser Gly Val Gly Ser Leu Thr Met Ala Ser Gly Gly Gly			
	195	200	205
Ala Pro Val Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser Ser			
	210	215	220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile			
225	230	235	240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu			
	245	250	255
Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Ser Thr Ser Gly Gly Ser Ser Asn Asp Asn			
	260	265	270
Ala Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg			
	275	280	285
Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn			
	290	295	300
Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile			
305	310	315	320
Gln Val Lys Glu Val Thr Asp Asn Asn Gly Val Lys Thr Ile Ala Asn			
	325	330	335
Asn Leu Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Asp Tyr Gln Leu			
	340	345	350
Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Glu Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro			
	355	360	365
Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asp			
	370	375	380
Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe			
385	390	395	400
Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Gln Phe Ser Tyr Glu			
	405	410	415
Phe Glu Asn Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu			
	420	425	430
Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser			
	435	440	445
Lys Thr Ile Asn Gly Ser Gly Gln Asn Gln Gln Thr Leu Lys Phe Ser			

450	455	460
Val Ala Gly Pro Ser Asn Met Ala Val Gln Gly Arg Asn Tyr Ile Pro		
465	470	475
Gly Pro Ser Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Val Thr Gln Asn		
485	490	495
Asn Asn Ser Glu Phe Ala Trp Pro Gly Ala Ser Ser Trp Ala Leu Asn		
500	505	510
Gly Arg Asn Ser Leu Met Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys		
515	520	525
Glu Gly Glu Asp Arg Phe Phe Pro Leu Ser Gly Ser Leu Ile Phe Gly		
530	535	540
Lys Gln Gly Thr Gly Arg Asp Asn Val Asp Ala Asp Lys Val Met Ile		
545	550	555
Thr Asn Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Ser		
565	570	575
Tyr Gly Gln Val Ala Thr Asn His Gln Ser Asp Gly Ala Gln Ala Gln		
580	585	590
Thr Gly Trp Val Gln Asn Gln Gly Ile Leu Pro Gly Met Val Trp Gln		
595	600	605
Asp Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His		
610	615	620
Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Met		
625	630	635
Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala		
645	650	655
Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Lys Asp Lys Leu Asn Ser Phe Ile Thr		
660	665	670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln		
675	680	685
Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn		
690	695	700
Tyr Tyr Lys Ser Asn Asn Val Glu Phe Ala Val Asn Thr Glu Gly Val		
705	710	715
Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu		
725	730	735

<210> 35

<211> 738

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 35

Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Ser
1				5					10					15	
Glu	Gly	Ile	Arg	Glu	Trp	Trp	Asp	Leu	Lys	Pro	Gly	Ala	Pro	Lys	Pro
			20					25						30	
Lys	Ala	Asn	Gln	Gln	Lys	Gln	Asp	Asp	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
		35					40					45			
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
	50					55				60					
Val	Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
65				70					75					80	
Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala
				85				90						95	
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
		100						105					110		
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro
	115						120					125			
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
	130					135					140				
Pro	Val	Glu	Pro	Ser	Pro	Gln	Arg	Ser	Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile
145				150					155					160	
Gly	Lys	Lys	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln
			165					170						175	
Thr	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Ile	Gly	Glu	Pro
		180						185					190		
Pro	Ala	Gly	Pro	Ser	Gly	Leu	Gly	Ser	Gly	Thr	Met	Ala	Ala	Gly	Gly
	195					200					205				
Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Ser
	210					215					220				
Ser	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val
225				230					235					240	
Ile	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His
			245					250						255	
Leu	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Asp
	260						265					270			
Asn	Thr	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn
	275						280					285			

Arg	Phe	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn
290						295					300				
Asn	Asn	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn
305					310					315					320
Ile	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Glu	Gly	Thr	Lys	Thr	Ile	Ala
				325						330					335
Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Thr	Ile	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln
			340						345					350	
Leu	Pro	Tyr	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe
		355					360					365			
Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn
		370				375						380			
Asn	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr
385					390						395				400
Phe	Pro	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Glu	Phe	Ser	Tyr
				405						410					415
Gln	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser
			420							425				430	
Leu	Asp	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu
		435						440						445	
Ser	Arg	Thr	Gln	Ser	Thr	Gly	Gly	Thr	Ala	Gly	Thr	Gln	Gln	Leu	Leu
		450					455							460	
Phe	Ser	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Asn	Met	Ser	Ala	Gln	Ala	Lys	Asn	Trp
465						470					475				480
Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Thr	Thr	Leu	Ser
				485						490					495
Gln	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Ala	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His
			500							505				510	
Leu	Asn	Gly	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Val	Ala	Met	Ala	Thr
		515						520					525		
His	Lys	Asp	Asp	Glu	Glu	Arg	Phe	Phe	Pro	Ser	Ser	Gly	Val	Leu	Met
		530					535					540			
Phe	Gly	Lys	Gln	Gly	Ala	Gly	Lys	Asp	Asn	Val	Asp	Tyr	Ser	Ser	Val
545					550					555					560
Met	Leu	Thr	Ser	Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr
				565						570					575
Glu	Gln	Tyr	Gly	Val	Val	Ala	Asp	Asn	Leu	Gln	Gln	Gln	Asn	Ala	Ala
			580						585					590	
Pro	Ile	Val	Gly	Ala	Val	Asn	Ser	Gln	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val

595	600	605
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr	Leu Gln Gly Pro Ile	Trp Ala Lys Ile
610	615	620
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe	His Pro Ser Pro Leu Met	Gly Gly Phe
625	630	635
640	645	650
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro	Gln Ile Leu Ile Lys Asn	Thr Pro Val
655	660	665
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr	Phe Ser Gln Ala Lys Leu	Ala Ser Phe
670	675	680
Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly	Gln Val Ser Val Glu Ile	Glu Trp Glu
685	690	695
Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys	Arg Trp Asn Pro Glu Ile	Gln Tyr Thr
700	705	710
Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr	Asn Val Asp Phe Ala Val	Asn Thr Asp
715	720	725
Gly Thr Tyr Ser Glu Pro Arg	Pro Ile Gly Thr Arg Tyr	Leu Thr Arg
730	735	
Asn Leu		
<210>	36	
<211>	738	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;AAV载体	
<400>	36	
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu	Pro Asp Trp Leu Glu Asp	Asn Leu Ser
1	5	10
15	20	25
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp	Asp Leu Lys Pro Gly Ala	Pro Lys Pro
30	35	40
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln	Asp Asp Gly Arg Gly Leu	Val Leu Pro
45	50	55
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro	Phe Asn Gly Leu Asp Lys	Gly Glu Pro
60	65	70
Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala	Ala Leu Glu His Asp Lys	Ala Tyr Asp
75	80	85
Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp	Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr	Asn His Ala
90	95	100
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg	Leu Gln Glu Asp Thr Ser	Phe Gly Gly
105	110	

Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro
115				120				125							
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Gly	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
130				135				140							
Pro	Val	Glu	Pro	Ser	Pro	Gln	Arg	Ser	Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile
145				150				155				160			
Gly	Lys	Thr	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln
				165				170				175			
Thr	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Ile	Gly	Glu	Pro
				180				185				190			
Pro	Ala	Gly	Pro	Ser	Gly	Leu	Gly	Ser	Gly	Thr	Met	Ala	Ala	Gly	Gly
195				200				205							
Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Ser
210				215				220							
Ser	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val
225				230				235				240			
Ile	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His
				245				250				255			
Leu	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Asp
260				265				270							
Asn	Thr	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn
275				280				285							
Arg	Phe	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn
290				295				300							
Asn	Asn	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn
305				310				315				320			
Ile	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Glu	Gly	Thr	Lys	Thr	Ile	Ala
				325				330				335			
Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Thr	Ile	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln
340				345				350							
Leu	Pro	Tyr	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe
355				360				365							
Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn
370				375				380							
Asn	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr
385				390				395				400			
Phe	Pro	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Glu	Phe	Ser	Tyr
				405				410				415			
Gln	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser

420	425	430
Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro	Leu Ile Asp Gln Tyr	Leu Tyr Tyr Leu
435	440	445
Ser Arg Thr Gln Ser Thr Gly	Gly Thr Ala Gly Thr	Gln Gln Leu Leu
450	455	460
Phe Ser Gln Ala Gly Pro Asn	Asn Met Ser Ala Gln Ala	Lys Asn Trp
465	470	475
Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg	Gln Gln Arg Val Ser Thr	Thr Leu Ser
485	490	495
Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe	Ala Trp Thr Gly Ala Thr	Lys Tyr His
500	505	510
Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu	Val Asn Pro Gly Val Ala	Met Ala Thr
515	520	525
His Lys Asp Asp Glu Glu Arg	Phe Phe Pro Ser Ser Gly	Val Leu Met
530	535	540
Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly	Lys Asp Asn Val Asp Tyr	Ser Ser Val
545	550	555
Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu	Ile Lys Thr Thr Asn Pro	Val Ala Thr
565	570	575
Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala	Asp Asn Leu Gln Gln Gln	Asn Ala Ala
580	585	590
Pro Ile Val Gly Ala Val Asn	Ser Gln Gly Ala Leu Pro	Gly Met Val
595	600	605
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr	Leu Gln Gly Pro Ile Trp	Ala Lys Ile
610	615	620
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe	His Pro Ser Pro Leu Met	Gly Gly Phe
625	630	635
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro	Gln Ile Leu Ile Lys Asn	Thr Pro Val
645	650	655
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr	Phe Ser Gln Ala Lys Leu	Ala Ser Phe
660	665	670
Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly	Gln Val Ser Val Glu Ile	Glu Trp Glu
675	680	685
Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys	Arg Trp Asn Pro Glu Ile	Gln Tyr Thr
690	695	700
Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr	Asn Val Asp Phe Ala Val	Asn Thr Glu
705	710	715
Gly Thr Tyr Ser Glu Pro Arg	Pro Ile Gly Thr Arg Tyr	Leu Thr Arg
725	730	735

Asn Leu
 <210> 37
 <211> 738
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体;AAV载体
 <400> 37
 Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser
 1 5 10 15
 Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Ala Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro
 20 25 30
 Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asp Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro
 35 40 45
 Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
 50 55 60
 Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
 65 70 75 80
 Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala
 85 90 95
 Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
 100 105 110
 Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
 115 120 125
 Leu Gly Leu Val Glu Glu Ala Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
 130 135 140
 Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile
 145 150 155 160
 Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln
 165 170 175
 Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro
 180 185 190
 Pro Ala Gly Pro Ser Gly Leu Gly Ser Gly Thr Met Ala Ala Gly Gly
 195 200 205
 Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser
 210 215 220
 Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val
 225 230 235 240
 Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His

				245					250					255			
Leu	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Asp		
				260					265					270			
Asn	Thr	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn		
				275					280					285			
Arg	Phe	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn		
				290					295					300			
Asn	Asn	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Ser	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn		
305							310				315				320		
Ile	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Glu	Gly	Thr	Lys	Thr	Ile	Ala		
				325					330					335			
Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Thr	Ile	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln		
				340					345					350			
Leu	Pro	Tyr	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe		
				355					360					365			
Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn		
				370					375					380			
Asn	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr		
385							390				395				400		
Phe	Pro	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Glu	Phe	Ser	Tyr		
				405					410					415			
Thr	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser		
				420					425					430			
Leu	Asp	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu		
				435					440					445			
Ser	Arg	Thr	Gln	Ser	Thr	Gly	Gly	Thr	Gln	Gly	Thr	Gln	Gln	Leu	Leu		
				450					455					460			
Phe	Ser	Gln	Ala	Gly	Pro	Ala	Asn	Met	Ser	Ala	Gln	Ala	Lys	Asn	Trp		
465							470				475				480		
Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Thr	Thr	Leu	Ser		
				485					490					495			
Gln	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Ala	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His		
				500					505					510			
Leu	Asn	Gly	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Val	Ala	Met	Ala	Thr		
				515					520					525			
His	Lys	Asp	Asp	Glu	Glu	Arg	Phe	Phe	Pro	Ser	Ser	Gly	Val	Leu	Met		
				530					535					540			
Phe	Gly	Lys	Gln	Gly	Ala	Gly	Arg	Asp	Asn	Val	Asp	Tyr	Ser	Ser	Val		
545							550				555				560		

Asn Leu

$\langle 400 \rangle$ 38

138

65	70	75	80
Gln Gln Leu Lys Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala			
	85	90	95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly			
	100	105	110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro			
	115	120	125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Gly Ala Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg			
	130	135	140
Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile			
145	150	155	160
Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln			
	165	170	175
Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Glu Pro			
	180	185	190
Pro Ala Ala Pro Ser Ser Val Gly Ser Gly Thr Met Ala Ala Gly Gly			
	195	200	205
Gly Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Ser			
	210	215	220
Ser Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Leu Gly Asp Arg Val			
225	230	235	240
Ile Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His			
	245	250	255
Leu Tyr Lys Gln Ile Ser Asn Gly Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Asp			
	260	265	270
Asn Thr Tyr Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn			
	275	280	285
Arg Phe His Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn			
	290	295	300
Asn Asn Trp Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn			
305	310	315	320
Ile Gln Val Lys Glu Val Thr Gln Asn Glu Gly Thr Lys Thr Ile Ala			
	325	330	335
Asn Asn Leu Thr Ser Thr Ile Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln			
	340	345	350
Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe			
	355	360	365
Pro Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn			
	370	375	380

Asn Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr															
385					390					395					400
Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Ser Phe Ser Tyr															
				405					410					415	
Thr Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser															
			420					425					430		
Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu															
			435				440					445			
Ser Arg Thr Gln Ser Thr Gly Gly Thr Ala Gly Thr Gln Gln Leu Leu															
			450				455				460				
Phe Ser Gln Ala Gly Pro Ser Asn Met Ser Ala Gln Ala Arg Asn Trp															
465					470					475					480
Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Leu Ser															
				485				490						495	
Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His															
			500					505					510		
Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr															
			515					520					525		
Asn Lys Asp Asp Glu Asp Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Ile Leu Met															
			530				535				540				
Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Lys Asp Asn Val Asp Tyr Ser Asn Val															
545					550					555					560
Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr															
				565					570					575	
Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu Gln Arg Gln Asn Thr Ala															
			580					585					590		
Pro Ile Val Gly Ala Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val															
			595				600					605			
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile															
			610				615				620				
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe															
625					630					635					640
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val															
				645					650				655		
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Ala Phe Asn Gln Ala Lys Leu Asn Ser Phe															
			660					665				670			
Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu															
			675				680				685				
Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr															

690	695	700
Ser Asn Tyr Tyr Lys	Ser Thr Asn Val Asp Phe	Ala Val Asn Thr Glu
705	710	715
Gly Val Tyr Ser Glu	Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg	
	725	730
Asn Leu		735
<210> 39		
<211> 738		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;AAV载体		
<400> 39		
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser		
1	5	10
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro		
	20	25
Lys Ala Asn Gln Gln Lys Gln Asp Asn Gly Arg Gly Leu Val Leu Pro		30
	35	40
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro		45
	50	55
Val Asn Ala Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp		60
65	70	75
Gln Gln Leu Gln Ala Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Arg Tyr Asn His Ala		80
	85	90
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Gln Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly		95
	100	105
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro		110
	115	120
Leu Gly Leu Val Glu Ser Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg		125
	130	135
Pro Val Glu Pro Ser Pro Gln Arg Ser Pro Asp Ser Ser Thr Gly Ile		140
145	150	155
Gly Lys Lys Gly Gln Gln Pro Ala Lys Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln		160
	165	170
Thr Gly Asp Ser Glu Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Ile Gly Glu Pro		175
	180	185
Pro Ala Gly Pro Ser Gly Leu Gly Ser Gly Thr Met Ala Ala Gly Gly		190
	195	200
		205

Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Ser	210	215	220
Ser	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	225	230	235
Ile	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	245	250	255
Leu	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Asp	260	265	270
Asn	Thr	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	275	280	285
Arg	Phe	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	290	295	300
Asn	Asn	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	305	310	315
Ile	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Glu	Gly	Thr	Lys	Thr	Ile	Ala	325	330	335
Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Thr	Ile	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	340	345	350
Leu	Pro	Tyr	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	355	360	365
Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	370	375	380
Asn	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	385	390	395
Phe	Pro	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Glu	Phe	Ser	Tyr	405	410	415
Asn	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	420	425	430
Leu	Asp	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	435	440	445
Ser	Arg	Thr	Gln	Ser	Thr	Gly	Gly	Thr	Ala	Gly	Thr	Gln	Gln	Leu	Leu	450	455	460
Phe	Ser	Gln	Ala	Gly	Pro	Asn	Asn	Met	Ser	Ala	Gln	Ala	Lys	Asn	Trp	465	470	475
Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Thr	Thr	Leu	Ser	485	490	495
Gln	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Ala	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His	500	505	510
Leu	Asn	Gly	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Val	Ala	Met	Ala	Thr			

515	520	525
His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Val Leu Met		
530	535	540
Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Lys Asp Asn Val Asp Tyr Ser Ser Val		
545	550	555
Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr		
565	570	575
Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Ala Ala		
580	585	590
Pro Ile Val Gly Ala Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val		
595	600	605
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile		
610	615	620
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe		
625	630	635
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val		
645	650	655
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Thr Lys Ala Lys Leu Ala Ser Phe		
660	665	670
Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu		
675	680	685
Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr		
690	695	700
Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu		
705	710	715
Gly Thr Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg		
725	730	735
Asn Leu		
<210> 40		
<211> 738		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;AAV载体		
<400> 40		
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Asn Leu Ser		
1 5 10 15		
Glu Gly Ile Arg Glu Trp Trp Asp Leu Lys Pro Gly Ala Pro Lys Pro		
20 25 30		

Lys	Ala	Asn	Gln	Gln	Lys	Gln	Asp	Asn	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro				
35					40					45									
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro				
50					55					60									
Val	Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp				
65					70					75					80				
Gln	Gln	Leu	Gln	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala				
85					90					95									
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly				
100					105					110									
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro				
115					120					125									
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Ser	Pro	Val	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg				
130					135					140									
Pro	Val	Glu	Pro	Ser	Pro	Gln	Arg	Ser	Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile				
145					150					155					160				
Gly	Lys	Lys	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln				
165					170					175									
Thr	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Ile	Gly	Glu	Pro				
180					185					190									
Pro	Ala	Gly	Pro	Ser	Gly	Leu	Gly	Ser	Gly	Thr	Met	Ala	Ala	Gly	Gly				
195					200					205									
Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Ser				
210					215					220									
Ser	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val				
225					230					235					240				
Ile	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His				
245					250					255									
Leu	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Asp				
260					265					270									
Asn	Thr	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn				
275					280					285									
Arg	Phe	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn				
290					295					300									
Asn	Asn	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn				
305					310					315					320				
Ile	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Glu	Gly	Thr	Lys	Thr	Ile	Ala				
325					330					335									
Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Thr	Ile	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln				

340	345	350
Leu Pro Tyr Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe		
355	360	365
Pro Ala Asp Val Phe Met Ile Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn		
370	375	380
Asn Gly Ser Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr		
385	390	395
Phe Pro Ser Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Glu Phe Ser Tyr		
405	410	415
Asn Phe Glu Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser		
420	425	430
Leu Asp Arg Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu		
435	440	445
Ser Arg Thr Gln Ser Thr Gly Gly Thr Ala Gly Thr Gln Gln Leu Leu		
450	455	460
Phe Ser Gln Ala Gly Pro Asn Asn Met Ser Ala Gln Ala Lys Asn Trp		
465	470	475
Leu Pro Gly Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Thr Thr Leu Ser		
485	490	495
Gln Asn Asn Asn Ser Asn Phe Ala Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His		
500	505	510
Leu Asn Gly Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Val Ala Met Ala Thr		
515	520	525
His Lys Asp Asp Glu Glu Arg Phe Phe Pro Ser Ser Gly Val Leu Met		
530	535	540
Phe Gly Lys Gln Gly Ala Gly Lys Asp Asn Val Asp Tyr Ser Ser Val		
545	550	555
Met Leu Thr Ser Glu Glu Glu Ile Lys Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr		
565	570	575
Glu Gln Tyr Gly Val Val Ala Asp Asn Leu Gln Gln Gln Asn Ala Ala		
580	585	590
Pro Ile Val Gly Ala Val Asn Ser Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val		
595	600	605
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile		
610	615	620
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe		
625	630	635
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val		
645	650	655

Pro	Ala	Asp	Pro	Pro	Thr	Thr	Phe	Asn	Gln	Ala	Lys	Leu	Ala	Ser	Phe
660				665				670							
Ile	Thr	Gln	Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu
675				680				685							
Leu	Gln	Lys	Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Ile	Gln	Tyr	Thr
690				695				700							
Ser	Asn	Tyr	Tyr	Lys	Ser	Thr	Asn	Val	Asp	Phe	Ala	Val	Asn	Thr	Glu
705				710				715				720			
Gly	Thr	Tyr	Ser	Glu	Pro	Arg	Pro	Ile	Gly	Thr	Arg	Tyr	Leu	Thr	Arg
725				730				735							

Asn Leu

<210> 41

<211> 735

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 41

Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	Ser
1	5				10				15						
Glu	Gly	Ile	Arg	Gln	Trp	Trp	Lys	Leu	Lys	Pro	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro
20				25				30							
Lys	Pro	Ala	Glu	Arg	His	Gln	Asp	Asp	Ser	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
35				40				45							
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
50				55				60							
Val	Asn	Glu	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
65				70				75				80			
Arg	Gln	Leu	Asp	Ser	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala
85				90				95							
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
100				105				110							
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro
115				120				125							
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Val	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
130				135				140							
Pro	Val	Glu	His	Ser	Pro	Val	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Gly
145				150				155				160			
Lys	Ala	Gly	His	Gln	Pro	Ala	Arg	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr

				165					170					175				
Gly	Asp	Ala	Asp	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Leu	Gly	Gln	Pro	Pro			
				180					185					190				
Ala	Ala	Pro	Thr	Ser	Leu	Gly	Ser	Thr	Thr	Met	Ala	Thr	Gly	Ser	Gly			
				195					200					205				
Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ser			
				210					215					220				
Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Gln	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val	Ile			
225					230					235					240			
Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu			
				245						250					255			
Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Gln	Ser	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	Tyr			
				260					265						270			
Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	His			
				275					280						285			
Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	Trp			
				290					295						300			
Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	Val			
305					310					315					320			
Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Asp	Gly	Thr	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	Leu			
				325						330					335			
Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr			
				340						345					350			
Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala	Asp			
				355					360						365			
Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser			
				370					375						380			
Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Pro	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser			
385					390					395					400			
Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Thr	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu			
				405						410					415			
Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg			
				420						425					430			
Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Arg	Thr			
				435						440					445			
Gln	Ser	Asn	Ser	Gly	Thr	Leu	Gln	Gln	Ser	Arg	Leu	Leu	Phe	Ser	Gln			
				450						455					460			
Ala	Gly	Pro	Thr	Ser	Met	Ser	Leu	Gln	Ala	Lys	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly			
465					470					475					480			

Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Asn	Asp	Asn	Asn			
																485	490	495
Asn	Ser	Asn	Phe	Pro	Trp	Thr	Ala	Ala	Thr	Lys	Tyr	His	Leu	Asn	Gly			
																500	505	510
Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	Asp			
																515	520	525
Asp	Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Met	His	Gly	Thr	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys			
																530	535	540
Gln	Gly	Thr	Asn	Ala	Asn	Asp	Ala	Asp	Leu	Glu	His	Val	Met	Ile	Thr			
																545	550	555
Asp	Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr			
																565	570	575
Gly	Asn	Val	Ser	Asn	Asn	Leu	Gln	Asn	Ser	Asn	Thr	Gly	Pro	Thr	Thr			
																580	585	590
Glu	Asn	Val	Asn	His	Gln	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val	Trp	Gln	Asp			
																595	600	605
Arg	Asp	Val	Tyr	Leu	Gln	Gly	Pro	Ile	Trp	Ala	Lys	Ile	Pro	His	Thr			
																610	615	620
Asp	Gly	His	Phe	His	Pro	Ser	Pro	Leu	Met	Gly	Gly	Phe	Gly	Leu	Lys			
																625	630	635
His	Pro	Pro	Pro	Gln	Ile	Met	Ile	Lys	Asn	Thr	Pro	Val	Pro	Ala	Asn			
																645	650	655
Pro	Pro	Thr	Asn	Phe	Ser	Ser	Ala	Lys	Phe	Ala	Ser	Phe	Ile	Thr	Gln			
																660	665	670
Tyr	Ser	Thr	Gly	Gln	Val	Ser	Val	Glu	Ile	Glu	Trp	Glu	Leu	Gln	Lys			
																675	680	685
Glu	Asn	Ser	Lys	Arg	Trp	Asn	Pro	Glu	Ile	Gln	Tyr	Thr	Ser	Asn	Tyr			
																690	695	700
Asn	Lys	Ser	Val	Asn	Val	Asp	Phe	Thr	Val	Asp	Thr	Asn	Gly	Val	Tyr			
																705	710	715
Ser	Glu	Pro	Arg	Pro	Ile	Gly	Thr	Arg	Tyr	Leu	Thr	Arg	Asn	Leu				
																725	730	735

<210> 42

<211> 735

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 42

Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Thr	Leu	Ser
1				5					10					15	
Glu	Gly	Ile	Arg	Gln	Trp	Trp	Lys	Leu	Lys	Pro	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro
			20					25					30		
Lys	Pro	Ala	Glu	Arg	His	Lys	Asp	Asp	Ser	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
		35					40					45			
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
	50					55					60				
Val	Asn	Glu	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
65				70						75					80
Arg	Gln	Leu	Asp	Ser	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Lys	Tyr	Asn	His	Ala
			85						90					95	
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Lys	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
		100						105					110		
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Ile	Leu	Glu	Pro
	115						120					125			
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Pro	Val	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
	130					135					140				
Pro	Val	Glu	His	Ser	Pro	Ala	Glu	Pro	Asp	Ser	Ser	Ser	Gly	Thr	Gly
145				150					155						160
Lys	Ala	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Arg	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln	Thr
			165						170				175		
Gly	Asp	Ala	Asp	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Arg	Pro	Leu	Gly	Gln	Pro	Pro
		180						185					190		
Ala	Ala	Pro	Ser	Gly	Leu	Gly	Thr	Asn	Thr	Met	Ala	Ser	Gly	Ser	Gly
		195					200					205			
Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Asn	Ser
	210					215					220				
Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Met	Gly	Asp	Arg	Val	Ile
225				230					235						240
Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His	Leu
			245						250					255	
Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Gln	Ser	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	Tyr
		260						265					270		
Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	His
		275						280				285			
Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	Trp
	290						295				300				
Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Ser	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	Val

305	310	315	320
Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu			
	325	330	335
Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr			
	340	345	350
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp			
	355	360	365
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser			
	370	375	380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser			
385	390	395	400
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu			
	405	410	415
Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg			
	420	425	430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr			
	435	440	445
Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Met Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln			
	450	455	460
Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly			
465	470	475	480
Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ala Ala Asp Asn Asn			
	485	490	495
Asn Ser Asp Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly			
	500	505	510
Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp			
	515	520	525
Asp Glu Glu Lys Tyr Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys			
	530	535	540
Gln Asp Ser Gly Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr			
545	550	555	560
Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr			
	565	570	575
Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Ser Gly Asn Thr Gln Ala Ala Thr			
	580	585	590
Ser Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp			
	595	600	605
Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr			
610	615	620	

<210>	43
<211>	735
<212>	PRT
<213>	人工序列(Artificial Sequence)
<220>	
<223>	合成构建体;AAV载体
<400>	43

151

Pro Val Glu His Ser Pro Ala Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly			
145	150	155	160
Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr			
	165	170	175
Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro			
	180	185	190
Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn Thr Met Ala Ser Gly Ser Gly			
	195	200	205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser			
	210	215	220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Met Gly Asp Arg Val Ile			
225	230	235	240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu			
	245	250	255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr			
	260	265	270
Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His			
	275	280	285
Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp			
	290	295	300
Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Ser Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val			
305	310	315	320
Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu			
	325	330	335
Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr			
	340	345	350
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp			
	355	360	365
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser			
	370	375	380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser			
385	390	395	400
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu			
	405	410	415
Asp Val Pro Phe His Ser Ser Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg			
	420	425	430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Arg Thr			
	435	440	445
Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Met Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln			

450	455	460
Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly		
465	470	475
Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ala Ala Asp Asn Asn		
485	490	495
Asn Ser Asp Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly		
500	505	510
Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp		
515	520	525
Asp Glu Glu Lys Tyr Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys		
530	535	540
Gln Asp Ser Gly Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr		
545	550	555
Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr		
565	570	575
Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Ser Gly Asn Thr Gln Ala Ala Thr		
580	585	590
Ser Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp		
595	600	605
Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr		
610	615	620
Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys		
625	630	635
His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn		
645	650	655
Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln		
660	665	670
Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys		
675	680	685
Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr		
690	695	700
Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr		
705	710	715
Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu		
725	730	735

<210> 44

<211> 738

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 44

Met	Ala	Ala	Asp	Gly	Tyr	Leu	Pro	Asp	Trp	Leu	Glu	Asp	Asn	Leu	Ser
1				5					10					15	
Glu	Gly	Ile	Arg	Glu	Trp	Trp	Asp	Leu	Lys	Pro	Gly	Ala	Pro	Lys	Pro
			20					25						30	
Lys	Ala	Asn	Gln	Gln	Lys	Gln	Asp	Asp	Gly	Arg	Gly	Leu	Val	Leu	Pro
		35					40					45			
Gly	Tyr	Lys	Tyr	Leu	Gly	Pro	Phe	Asn	Gly	Leu	Asp	Lys	Gly	Glu	Pro
	50					55				60					
Val	Asn	Ala	Ala	Asp	Ala	Ala	Ala	Leu	Glu	His	Asp	Lys	Ala	Tyr	Asp
65				70					75					80	
Gln	Gln	Leu	Lys	Ala	Gly	Asp	Asn	Pro	Tyr	Leu	Arg	Tyr	Asn	His	Ala
			85					90						95	
Asp	Ala	Glu	Phe	Gln	Glu	Arg	Leu	Gln	Glu	Asp	Thr	Ser	Phe	Gly	Gly
		100						105					110		
Asn	Leu	Gly	Arg	Ala	Val	Phe	Gln	Ala	Lys	Lys	Arg	Val	Leu	Glu	Pro
	115						120					125			
Leu	Gly	Leu	Val	Glu	Glu	Ala	Ala	Lys	Thr	Ala	Pro	Gly	Lys	Lys	Arg
	130					135					140				
Pro	Val	Glu	Pro	Ser	Pro	Gln	Arg	Ser	Pro	Asp	Ser	Ser	Thr	Gly	Ile
145				150						155				160	
Gly	Lys	Lys	Gly	Gln	Gln	Pro	Ala	Lys	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Gly	Gln
			165					170						175	
Thr	Gly	Asp	Ser	Glu	Ser	Val	Pro	Asp	Pro	Gln	Pro	Ile	Gly	Glu	Pro
		180						185					190		
Pro	Ala	Gly	Pro	Ser	Gly	Leu	Gly	Ser	Gly	Thr	Met	Ala	Ala	Gly	Gly
	195					200						205			
Gly	Ala	Pro	Met	Ala	Asp	Asn	Asn	Glu	Gly	Ala	Asp	Gly	Val	Gly	Ser
	210					215					220				
Ser	Ser	Gly	Asn	Trp	His	Cys	Asp	Ser	Thr	Trp	Leu	Gly	Asp	Arg	Val
225				230						235				240	
Ile	Thr	Thr	Ser	Thr	Arg	Thr	Trp	Ala	Leu	Pro	Thr	Tyr	Asn	Asn	His
			245					250						255	
Leu	Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Asn	Gly	Thr	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Asn	Asp
	260						265						270		
Asn	Thr	Tyr	Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn
	275						280						285		

Arg	Phe	His	Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn
290						295					300				
Asn	Asn	Trp	Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Ser	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn
305					310					315					320
Ile	Gln	Val	Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Glu	Gly	Thr	Lys	Thr	Ile	Ala
				325					330					335	
Asn	Asn	Leu	Thr	Ser	Thr	Ile	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln
			340					345					350		
Leu	Pro	Tyr	Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe
		355					360					365			
Pro	Ala	Asp	Val	Phe	Met	Ile	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn
		370				375					380				
Asn	Gly	Ser	Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr
385					390					395					400
Phe	Pro	Ser	Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Glu	Phe	Ser	Tyr
				405					410					415	
Thr	Phe	Glu	Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser
			420					425					430		
Leu	Asp	Arg	Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu
		435					440					445			
Ser	Arg	Thr	Gln	Ser	Thr	Gly	Gly	Thr	Gln	Gly	Thr	Gln	Gln	Leu	Leu
		450				455					460				
Phe	Ser	Gln	Ala	Gly	Pro	Ala	Asn	Met	Ser	Ala	Gln	Ala	Lys	Asn	Trp
465					470					475					480
Leu	Pro	Gly	Pro	Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Val	Ser	Thr	Thr	Leu	Ser
				485					490					495	
Gln	Asn	Asn	Asn	Ser	Asn	Phe	Ala	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	His
			500					505					510		
Leu	Asn	Gly	Arg	Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Val	Ala	Met	Ala	Thr
		515					520					525			
His	Lys	Asp	Asp	Glu	Glu	Arg	Phe	Phe	Pro	Ser	Ser	Gly	Val	Leu	Met
		530				535					540				
Phe	Gly	Lys	Gln	Gly	Ala	Gly	Arg	Asp	Asn	Val	Asp	Tyr	Ser	Ser	Val
545					550				555						560
Met	Leu	Thr	Ser	Glu	Glu	Glu	Ile	Lys	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr
				565					570					575	
Glu	Gln	Tyr	Gly	Val	Val	Ala	Asp	Asn	Leu	Gln	Gln	Thr	Asn	Thr	Gly
			580					585					590		
Pro	Ile	Val	Gly	Asn	Val	Asn	Ser	Gln	Gly	Ala	Leu	Pro	Gly	Met	Val

595	600	605
Trp Gln Asn Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile		
610	615	620
Pro His Thr Asp Gly Asn Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe		
625	630	635
Gly Leu Lys His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val		
645	650	655
Pro Ala Asp Pro Pro Thr Thr Phe Ser Gln Ala Lys Leu Ala Ser Phe		
660	665	670
Ile Thr Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu		
675	680	685
Leu Gln Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr		
690	695	700
Ser Asn Tyr Tyr Lys Ser Thr Asn Val Asp Phe Ala Val Asn Thr Glu		
705	710	715
Gly Thr Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg		
725	730	735
Asn Leu		
<210> 45		
<211> 736		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;AAV载体		
<400> 45		
Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser		
1 5 10 15		
Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro		
20 25 30		
Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro		
35 40 45		
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro		
50 55 60		
Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp		
65 70 75 80		
Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala		
85 90 95		
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly		
100 105 110		

Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro		
115	120	125
Leu Gly Leu Val Gly Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg		
130	135	140
Pro Val Glu His Ser Pro Val Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly		
145	150	155
Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr		
	165	170
		175
Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Gly Gln Pro Pro		
	180	185
		190
Ala Ala Pro Ser Gly Leu Gly Thr Asn Thr Met Ala Thr Gly Ser Gly		
	195	200
		205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser		
	210	215
		220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Thr Trp Met Gly Asp Arg Val Ile		
225	230	235
		240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu		
	245	250
		255
Tyr Lys Gln Ile Ser Ser Gln Ser Gly Ala Ser Asn Asp Asn His Tyr		
	260	265
		270
Phe Gly Tyr Ser Thr Pro Trp Gly Tyr Phe Asp Phe Asn Arg Phe His		
	275	280
		285
Cys His Phe Ser Pro Arg Asp Trp Gln Arg Leu Ile Asn Asn Asn Trp		
	290	295
		300
Gly Phe Arg Pro Lys Arg Leu Asn Phe Lys Leu Phe Asn Ile Gln Val		
305	310	315
		320
Lys Glu Val Thr Gln Asn Asp Gly Thr Thr Thr Ile Ala Asn Asn Leu		
	325	330
		335
Thr Ser Thr Val Gln Val Phe Thr Asp Ser Glu Tyr Gln Leu Pro Tyr		
	340	345
		350
Val Leu Gly Ser Ala His Gln Gly Cys Leu Pro Pro Phe Pro Ala Asp		
	355	360
		365
Val Phe Met Val Pro Gln Tyr Gly Tyr Leu Thr Leu Asn Asn Gly Ser		
	370	375
		380
Gln Ala Val Gly Arg Ser Ser Phe Tyr Cys Leu Glu Tyr Phe Pro Ser		
385	390	395
		400
Gln Met Leu Arg Thr Gly Asn Asn Phe Thr Phe Ser Tyr Thr Phe Glu		
	405	410
		415
Asp Val Pro Phe His Ser Gly Tyr Ala His Ser Gln Ser Leu Asp Arg		

	420		425		430
Leu Met Asn Pro Leu Ile Asp Gln Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ser Thr Thr					
	435		440		445
Asn Thr Pro Ser Gly Thr Thr Thr Gln Ser Arg Leu Gln Phe Ser Gln					
	450		455		460
Ala Gly Ala Ser Asp Ile Arg Asp Gln Ser Arg Asn Trp Leu Pro Gly					
465			470		480
Pro Cys Tyr Arg Gln Gln Arg Val Ser Lys Thr Ser Ala Asp Asn Asn					
	485		490		495
Asn Ser Glu Tyr Ser Trp Thr Gly Ala Thr Lys Tyr His Leu Asn Gly					
	500		505		510
Arg Asp Ser Leu Val Asn Pro Gly Pro Ala Met Ala Ser His Lys Asp					
	515		520		525
Asn Glu Glu Lys Phe Phe Pro Gln Ser Gly Val Leu Ile Phe Gly Lys					
	530		535		540
Gln Gly Ser Glu Lys Thr Asn Val Asp Ile Glu Lys Val Met Ile Thr					
545			550		560
Asp Glu Glu Glu Ile Arg Thr Thr Asn Pro Val Ala Thr Glu Gln Tyr					
	565		570		575
Gly Ser Val Ser Thr Asn Leu Gln Arg Gly Asn Arg Gln Ala Ala Thr					
	580		585		590
Ala Asp Val Asn Thr Gln Gly Val Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp					
	595		600		605
Arg Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr					
	610		615		620
Asp Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys					
625			630		640
His His Pro Pro Pro Gln Ile Leu Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala					
	645		650		655
Asn Pro Ser Thr Thr Phe Ser Ala Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr					
	660		665		670
Gln Tyr Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln					
	675		680		685
Lys Glu Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn					
	690		695		700
Tyr Asn Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val					
705			710		720
Tyr Ser Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu					
	725		730		735

<210> 46

<211> 734

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;AAV载体

<400> 46

```

Met Ala Ala Asp Gly Tyr Leu Pro Asp Trp Leu Glu Asp Thr Leu Ser
1           5           10           15
Glu Gly Ile Arg Gln Trp Trp Lys Leu Lys Pro Gly Pro Pro Pro Pro
          20           25           30
Lys Pro Ala Glu Arg His Lys Asp Asp Ser Arg Gly Leu Val Leu Pro
          35           40           45
Gly Tyr Lys Tyr Leu Gly Pro Phe Asn Gly Leu Asp Lys Gly Glu Pro
          50           55           60
Val Asn Glu Ala Asp Ala Ala Ala Leu Glu His Asp Lys Ala Tyr Asp
65           70           75           80
Arg Gln Leu Asp Ser Gly Asp Asn Pro Tyr Leu Lys Tyr Asn His Ala
          85           90           95
Asp Ala Glu Phe Gln Glu Arg Leu Lys Glu Asp Thr Ser Phe Gly Gly
          100          105          110
Asn Leu Gly Arg Ala Val Phe Gln Ala Lys Lys Arg Val Leu Glu Pro
          115          120          125
Leu Gly Leu Val Glu Glu Pro Val Lys Thr Ala Pro Gly Lys Lys Arg
          130          135          140
Pro Val Glu His Ser Pro Ala Glu Pro Asp Ser Ser Ser Gly Thr Gly
145          150          155          160
Lys Ala Gly Gln Gln Pro Ala Arg Lys Arg Leu Asn Phe Gly Gln Thr
          165          170          175
Gly Asp Ala Asp Ser Val Pro Asp Pro Gln Pro Leu Arg Gln Pro Pro
          180          185          190
Ala Ala Pro Thr Ser Leu Gly Ser Thr Thr Met Ala Thr Gly Ser Gly
          195          200          205
Ala Pro Met Ala Asp Asn Asn Glu Gly Ala Asp Gly Val Gly Asn Ser
          210          215          220
Ser Gly Asn Trp His Cys Asp Ser Gln Trp Leu Gly Asp Arg Val Ile
225          230          235          240
Thr Thr Ser Thr Arg Thr Trp Ala Leu Pro Thr Tyr Asn Asn His Leu
          245          250          255

```

Tyr	Lys	Gln	Ile	Ser	Ser	Gln	Ser	Gly	Ala	Ser	Asn	Asp	Asn	His	Tyr
260				265				270							
Phe	Gly	Tyr	Ser	Thr	Pro	Trp	Gly	Tyr	Phe	Asp	Phe	Asn	Arg	Phe	His
275				280				285							
Cys	His	Phe	Ser	Pro	Arg	Asp	Trp	Gln	Arg	Leu	Ile	Asn	Asn	Asn	Trp
290				295				300							
Gly	Phe	Arg	Pro	Lys	Arg	Leu	Asn	Phe	Lys	Leu	Phe	Asn	Ile	Gln	Val
305				310				315				320			
Lys	Glu	Val	Thr	Gln	Asn	Asp	Gly	Thr	Thr	Thr	Ile	Ala	Asn	Asn	Leu
				325				330				335			
Thr	Ser	Thr	Val	Gln	Val	Phe	Thr	Asp	Ser	Glu	Tyr	Gln	Leu	Pro	Tyr
				340				345				350			
Val	Leu	Gly	Ser	Ala	His	Gln	Gly	Cys	Leu	Pro	Pro	Phe	Pro	Ala	Asp
355				360				365							
Val	Phe	Met	Val	Pro	Gln	Tyr	Gly	Tyr	Leu	Thr	Leu	Asn	Asn	Gly	Ser
370				375				380							
Gln	Ala	Val	Gly	Arg	Ser	Ser	Phe	Tyr	Cys	Leu	Glu	Tyr	Phe	Pro	Ser
385				390				395				400			
Gln	Met	Leu	Arg	Thr	Gly	Asn	Asn	Phe	Gln	Phe	Ser	Tyr	Thr	Phe	Glu
				405				410				415			
Asp	Val	Pro	Phe	His	Ser	Ser	Tyr	Ala	His	Ser	Gln	Ser	Leu	Asp	Arg
420				425				430							
Leu	Met	Asn	Pro	Leu	Ile	Asp	Gln	Tyr	Leu	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Arg	Thr
435				440				445							
Gln	Thr	Ala	Ser	Gly	Thr	Gln	Gln	Ser	Arg	Leu	Leu	Phe	Ser	Gln	Ala
450				455				460							
Gly	Pro	Thr	Ser	Met	Ser	Leu	Gln	Ala	Lys	Asn	Trp	Leu	Pro	Gly	Pro
465				470				475				480			
Cys	Tyr	Arg	Gln	Gln	Arg	Leu	Ser	Lys	Gln	Ala	Asn	Asp	Asn	Asn	Asn
				485				490				495			
Ser	Asn	Phe	Pro	Trp	Thr	Gly	Ala	Thr	Lys	Tyr	Tyr	Leu	Asn	Gly	Arg
500				505				510							
Asp	Ser	Leu	Val	Asn	Pro	Gly	Pro	Ala	Met	Ala	Ser	His	Lys	Asp	Asp
515				520				525							
Glu	Glu	Lys	Phe	Phe	Pro	Met	His	Gly	Thr	Leu	Ile	Phe	Gly	Lys	Glu
530				535				540							
Gly	Thr	Asn	Ala	Thr	Asn	Ala	Glu	Leu	Glu	Asn	Val	Met	Ile	Thr	Asp
545				550				555				560			
Glu	Glu	Glu	Ile	Arg	Thr	Thr	Asn	Pro	Val	Ala	Thr	Glu	Gln	Tyr	Gly

	565		570		575
Tyr Val Ser Asn Asn Leu Gln Asn Ser Asn Thr Ala Ala Ser Thr Glu					
	580		585		590
Thr Val Asn His Gln Gly Ala Leu Pro Gly Met Val Trp Gln Asp Arg					
	595		600		605
Asp Val Tyr Leu Gln Gly Pro Ile Trp Ala Lys Ile Pro His Thr Asp					
	610		615		620
Gly His Phe His Pro Ser Pro Leu Met Gly Gly Phe Gly Leu Lys His					
625		630		635	640
Pro Pro Pro Gln Ile Met Ile Lys Asn Thr Pro Val Pro Ala Asn Pro					
	645		650		655
Pro Thr Asn Phe Ser Ser Ala Lys Phe Ala Ser Phe Ile Thr Gln Tyr					
	660		665		670
Ser Thr Gly Gln Val Ser Val Glu Ile Glu Trp Glu Leu Gln Lys Glu					
	675		680		685
Asn Ser Lys Arg Trp Asn Pro Glu Ile Gln Tyr Thr Ser Asn Tyr Asn					
	690		695		700
Lys Ser Val Asn Val Asp Phe Thr Val Asp Thr Asn Gly Val Tyr Ser					
705		710		715	720
Glu Pro Arg Pro Ile Gly Thr Arg Tyr Leu Thr Arg Asn Leu					
	725		730		

<210> 47

<211> 232

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;IgG1

<400> 47

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

	85		90		95
Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala					
100		105		110	
Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro					
115		120		125	
Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr					
130		135		140	
Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser					
145		150		155	
Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr					
165		170		175	
Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr					
180		185		190	
Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe					
195		200		205	
Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys					
210		215		220	
Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
225		230			
<210> 48					
<211> 228					
<212> PRT					
<213> 人工序列(Artificial Sequence)					
<220>					
<223> 合成构建体;IgG2					
<400> 48					
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val					
1	5	10		15	
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu					
20		25		30	
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser					
35		40		45	
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu					
50		55		60	
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr					
65		70		75	
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn					
85		90		95	
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro					

100	105	110
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
115	120	125
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
130	135	140
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ser Val		
145	150	155
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
165	170	175
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
180	185	190
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
195	200	205
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
210	215	220
Ser Pro Gly Lys		
225		
<210> 49		
<211> 229		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;Igg4		
<400> 49		
Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe		
1 5 10 15		
Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr		
20 25 30		
Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val		
35 40 45		
Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val		
50 55 60		
Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser		
65 70 75 80		
Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu		
85 90 95		
Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser		
100 105 110		
Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro		

115	120	125
Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln		
130	135	140
Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala		
145	150	155
Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr		
165	170	175
Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu		
180	185	190
Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser		
195	200	205
Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser		
210	215	220
Leu Ser Leu Gly Lys		
225		
<210> 50		
<211> 1725		
<212> DNA		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;启动子		
<400> 50		
gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc	60	
catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaattgg cccgcctggc tgaccgcccc	120	
acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga	180	
ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc	240	
aagtgtatca tatgccaaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt	300	
ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat	360	
tagtcatcgc tattaccatg gtcgaggtga gccccacgtt ctgcttcaact ctccccatct	420	
cccccccctc cccacccccca attttgtatt tattttatttt ttaattattt tgtgcagcga	480	
tgggggcggg gggggggggg gggcgcgcg caggcggggc ggggcggggc gaggggcggg	540	
gcggggcgag gcggagaggt gcggcggcag ccaatcagag cggcgcgctc cgaaagtttc	600	
cttttatggc gaggcggcgg cggcggcggc cctataaaaa gcgaagcgcg cggcgggcgg	660	
gagtcgctgc gcgctgcctt cgccccgtgc cccgctccgc cgccgcctcg cgccgcccgc	720	
cccggctctg actgaccgcg ttactccac aggtgagcgg gcgggacggc ctttctctc	780	
cgggctgtaa ttagcgcttg gtttaatgac ggcttgtttc ttttctgttg ctgcgtgaaa	840	
gccttgaggg gctccgggag ggccctttgt gcggggggag cggctcgggg ggtgcgtgcg	900	
tgtgtgtgtg cgtggggagc gccgcgtgcg gctccgcgt gcccggcggc tgtgagcgct	960	
gcgggcgcgg cgcggggctt tgtgcgctcc gcagtgtgcg cgaggggagc gcggccgggg	1020	

gcggtgcccc gcggtgcggg gggggctgcg aggggaacaa aggctgcgtg cggggtgtgt 1080
 gcgtgggggg gtgagcaggg ggtgtgggcg cgtcggtcgg gctgcaaccc cccctgcacc 1140
 cccctccccg agttgctgag cacggcccgg cttcgggtgc ggggctccgt acggggcgtg 1200
 gcgcggggct cgccgtgccg ggcgggggggt ggcggcaggt gggggtgccg ggcggggcgg 1260
 ggccgcctcg ggccggggag ggctcggggg aggggcgcgg cggcccccg agcgccggcg 1320
 gctgtcgagg cgcggcgagc cgcagccatt gccttttatg gtaatcgtgc gagaggcgcg 1380
 agggacttcc tttgtcccaa atctgtgcgg agccgaaatc tgggaggcg cgccgcaccc 1440
 cctctagcgg gcgcggggcg aagcgggtgc gcgccggcag gaaggaaatg ggcggggagg 1500
 gccttcgtgc gtcgccgcgc cgccgtcccc ttctccctct ccagcctcgg ggctgtccgc 1560
 ggggggacgg ctgccttcgg gggggacggg gcagggcggg gttcggcttc tggcgtgtga 1620
 ccggcggtc tagagcctct gtaaacatg ttcatgcctt cttctttttc ctacagctcc 1680
 tgggcaacgt gctggttatt gtgctgtctc atcattttgg caaag 1725

<210> 51

<211> 1676

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;启动子

<400> 51

gacattgatt attgactagt tattaatagt aatcaattac ggggtcatta gttcatagcc 60
 catatatgga gttccgcgtt acataactta cggtaaattg cccgcctggc tgaccgcccc 120
 acgacccccg cccattgacg tcaataatga cgtatgttcc catagtaacg ccaataggga 180
 ctttccattg acgtcaatgg gtggagtatt tacggtaaac tgcccacttg gcagtacatc 240
 aagtgtatca tatgccaagt acgcccccta ttgacgtcaa tgacggtaaa tggcccgctt 300
 ggcattatgc ccagtacatg accttatggg actttcctac ttggcagtac atctacgtat 360
 tagtcatcgc tattaccatg gtcgaggtga gcccacgtt ctgcttact ctccccatct 420
 cccccccctc cccacccccca attttgtatt tattttat ttaattattt tgtgcagcga 480
 tgggggcggg gggggggggg gggcgcgcg caggcggggc ggggcggggc gaggggcggg 540
 gcggggcgag gcggagaggt gcggcggcag ccaatcagag cggcgcgctc cgaaagtttc 600
 cttttatggc gaggcggcgg cggcggcggc cctataaaaa gcgaagcgcg cggcgggcgg 660
 gagtcgtgc gcgctgcctt cgccccgtgc cccgctccgc cgccgcctcg cgccgcccgc 720
 cccggctctg actgaccgcg ttactccac aggtgagcgg gcgggacggc ctttctctc 780
 cgggctgtaa ttagcgcttg gtttaatgac ggcttgtttc ttttctgtgg ctgcgtgaaa 840
 gccttgaggg gctccgggag ggccctttgt gcggggggag cggtcgggg ggtgcgtgcg 900
 tgtgtgtgtg cgtggggagc gccgcgtgc gctccgcgt gcccggcggc tgtgagcgt 960
 gcgggcgcgg cgcggggctt tgtgcgtcc gcagtgtgc cgaggggagc gcggccgggg 1020
 gcggtgcccc gcggtgcggg gggggctgcg aggggaacaa aggctgcgtg cggggtgtgt 1080
 gcgtgggggg gtgagcaggg ggtgtgggcg cgtcggtcgg gctgcaaccc cccctgcacc 1140
 cccctccccg agttgctgag cacggcccgg cttcgggtgc ggggctccgt acggggcgtg 1200

gcgcggggct cgccgtgccg ggcggggggt ggcggcaggt gggggtgccg ggcggggcgg	1260
ggccgcctcg ggccggggag ggctcggggg aggggcgcgg cggcccccg agcgccggcg	1320
gctgtcgagg cgcggcgagc cgcagccatt gccttttatg gtaatcgtgc gagagggcgc	1380
agggacttcc tttgtcccaa atctgtgcgg agccgaaatc tgggaggcgc cgccgcaccc	1440
cctctagcgg gcgcggggcg aagcgggtgcg gcgccggcag gaaggaaatg ggcggggagg	1500
gccttcgtgc gtcgccgcgc cgccgtcccc ttctccctct ccagcctcgg ggctgtccgc	1560
ggggggacgg ctgccttcgg gggggacggg gcagggcggg gttcggcttc tggcgtgtga	1620
ccggcggctc tagagcctct gctaaccatg ttcatgcctt cttctttttc ctacag	1676
<210> 52	
<211> 251	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;启动子	
<400> 52	
atggaggcgg tactatgtag atgagaattc aggagcaaac tgggaaaagc aactgcttcc	60
aaatatattgt gattttttaca gtgtagtttt ggaaaaactc ttagcctacc aattcttcta	120
agtgttttaa aatgtgggag ccagtacaca tgaagttata gagtgtttta atgaggctta	180
aatatattacc gtaactatga aatgctacgc atatcatgct gttcaggctc cgtggccacg	240
caactcatac t	251
<210> 53	
<211> 212	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;启动子	
<400> 53	
gggcagagcg cacatcgccc acagtccccg agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa	60
cgggtgccta gagaaggtgg gcgggggtaa actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc	120
gcctttttcc cgagggtggg ggagaaccgt atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc	180
tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac ag	212
<210> 54	
<211> 295	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;启动子	
<400> 54	
gggccccaga agcctggtgg ttgtttgtcc ttctcagggg aaaagtgagg cggcccccttg	60

gaggaagggg ccgggcagaa tgatctaatac ggattccaag cagctcaggg gattgtcttt	120
ttctagcacc ttcttgccac tcctaagcgt cctccgtgac cccggctggg atttagcctg	180
gtgctgtgtc agccccgggc tcccaggggc ttcccagtgg tccccaggaa ccctcgacag	240
ggccagggcg tctctctcgt ccagcaaggg cagggacggg ccacaggcca agggc	295
<210> 55	
<211> 127	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控元件	
<400> 55	
gatctttttc cctctgccaa aaattatggg gacatcatga agccccttga gcatctgact	60
tctggctaataaaggaatt tattttcatt gcaatagtgt gttggaattt tttgtgtctc	120
tcactcg	127
<210> 56	
<211> 133	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控元件	
<400> 56	
gtaagtatca aggttacaag acaggttttaa ggagaccaat agaaactggg cttgtcgaga	60
cagagaagac tcttgcgttt ctgataggca cctattggtc ttactgacat ccactttgcc	120
tttctctcca cag	133
<210> 57	
<211> 82	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控元件	
<400> 57	
gtgagtatct cagggatcca gacatgggga tatgggaggt gcctctgac ccagggtca	60
ctgtgggtct ctctgttcac ag	82
<210> 58	
<211> 130	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控元件	

<400> 58	
ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt	60
ggtcgccccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtggccaa ctccatcact	120
aggggttcct	130
<210> 59	
<211> 106	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控元件	
<400> 59	
ctgcgcgctc gctcgtcac tgaggccgcc cgggcaaagc ccgggcgtcg ggcgaccttt	60
ggtcgccccgg cctcagtgag cgagcgagcg cgcagagagg gagtgg	106
<210> 60	
<211> 143	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控元件	
<400> 60	
gaacccttag tgatggagtt ggccactccc tctctgcgcg ctgcctcgct cactgaggcc	60
gccccgggcaa agccccgggcg tcgggcgacc ttgtgtcgcc cggcctcagt gagcgagcga	120
gcgcgcagag agggagtggc caa	143
<210> 61	
<211> 110	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控元件	
<400> 61	
ttggccactc cctctctgcg cgctcgctcg ctactgagg ccgggcgacc aaaggtcgcc	60
cgacgccccgg gctttgcccc ggccggcctca gtgagcgagc gagcgcgagc	110
<210> 62	
<211> 20	
<212> PRT	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;信号序列	
<400> 62	

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Leu Leu Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu
1 5 10 15
Val Thr Asn Ser
20
<210> 63
<211> 60
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;信号序列
<400> 63
atgtatagga tgcaactgct cctcctgatt gctctgagcc tggctcttgt gaccaactct 60
<210> 64
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;信号序列
<400> 64
Met Asn Phe Leu Leu Ser Trp Val His Trp Ser Leu Ala Leu Leu Leu
1 5 10 15
Tyr Leu His His Ala Lys Trp Ser Gln Ala
20 25
<210> 65
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;信号序列
<400> 65
Met Glu Arg Ala Ala Pro Ser Arg Arg Val Pro Leu Pro Leu Leu Leu
1 5 10 15
Leu Gly Gly Leu Ala Leu Leu Ala Ala Gly Val Asp Ala
20 25
<210> 66
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 66

Met Ala Pro Leu Arg Pro Leu Leu Ile Leu Ala Leu Leu Ala Trp Val

1 5 10 15

Ala Leu Ala

<210> 67

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 67

Met Arg Leu Leu Ala Lys Ile Ile Cys Leu Met Leu Trp Ala Ile Cys

1 5 10 15

Val Ala

<210> 68

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 68

Met Arg Leu Leu Ala Phe Leu Ser Leu Leu Ala Leu Val Leu Gln Glu

1 5 10 15

Thr Gly Thr

<210> 69

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 69

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala

1 5 10 15

Tyr Ser

<210> 70

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 70

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

1 5 10 15

Phe Gly

<210> 71

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 71

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ile Leu Ala Leu

1 5 10 15

Val Thr Asn Ser

20

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 72

Met Asn Leu Leu Leu Ile Leu Thr Phe Val Ala Ala Ala Val Ala

1 5 10 15

<210> 73

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 73

Met Lys Trp Val Thr Phe Ile Ser Leu Leu Phe Leu Phe Ser Ser Ala

1 5 10 15

Tyr Ser

<210> 74

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 74

Met Pro Ser Ser Val Ser Trp Gly Ile Leu Leu Leu Ala Gly Leu Cys

1 5 10 15

Cys Leu Val Pro Val Ser Leu Ala

20

<210> 75

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 75

Met Lys Ala Ala Val Leu Thr Leu Ala Val Leu Phe Leu Thr Gly Ser

1 5 10 15

Gln Ala

<210> 76

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 76

Met Lys Leu Leu Ala Ala Thr Val Leu Leu Leu Thr Ile Cys Ser Leu

1 5 10 15

Glu Gly

<210> 77

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 77

Met Asp Pro Pro Arg Pro Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala Leu Pro Ala

1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Ala Gly Ala Arg Ala

20

25

<210> 78

<211> 28

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 78

Met Gln Arg Val Asn Met Ile Met Ala Glu Ser Pro Gly Leu Ile Thr

1 5 10 15

Ile Cys Leu Leu Gly Tyr Leu Leu Ser Ala Glu Cys

20 25

<210> 79

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 79

Met Gly Pro Leu Met Val Leu Phe Cys Leu Leu Phe Leu Tyr Pro Gly

1 5 10 15

Leu Ala Asp Ser

20

<210> 80

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 80

Met Trp Leu Leu Val Ser Val Ile Leu Ile Ser Arg Ile Ser Ser Val

1 5 10 15

Gly Gly

<210> 81

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 81

Met Leu Leu Leu Phe Ser Val Ile Leu Ile Ser Trp Val Ser Thr Val
 1 5 10 15
 Gly Gly
 <210> 82
 <211> 19
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体;信号序列
 <400> 82

Met Phe Ser Met Arg Ile Val Cys Leu Val Leu Ser Val Val Gly Thr
 1 5 10 15
 Ala Trp Thr
 <210> 83
 <211> 30
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体;信号序列
 <400> 83

Met Lys Arg Met Val Ser Trp Ser Phe His Lys Leu Lys Thr Met Lys
 1 5 10 15
 His Leu Leu Leu Leu Leu Leu Cys Val Phe Leu Val Lys Ser
 20 25 30
 <210> 84
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 合成构建体;信号序列
 <400> 84

Met Ser Trp Ser Leu His Pro Arg Asn Leu Ile Leu Tyr Phe Tyr Ala
 1 5 10 15
 Leu Leu Phe Leu Ser Ser Thr Cys Val Ala
 20 25
 <210> 85
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 85

Met Lys Ser Leu Val Leu Leu Leu Cys Leu Ala Gln Leu Trp Gly Cys

1 5 10 15

His Ser

<210> 86

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 86

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

1 5 10 15

Cys Trp Ser Leu Ala Ile Ala

20

<210> 87

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 87

Met Lys Leu Ile Thr Ile Leu Phe Leu Cys Ser Arg Leu Leu Leu Ser

1 5 10 15

Leu Thr

<210> 88

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 88

Met Ser Leu Phe Pro Ser Leu Pro Leu Leu Leu Ser Met Val Ala

1 5 10 15

Ala Ser Tyr Ser

20

<210> 89

<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;信号序列
<400> 89
Met Glu His Lys Glu Val Val Leu Leu Leu Leu Leu Phe Leu Lys Ser
1 5 10 15
Gly Gln Gly
<210> 90
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;信号序列
<400> 90
Met Ala His Val Arg Gly Leu Gln Leu Pro Gly Cys Leu Ala Leu Ala
1 5 10 15
Ala Leu Cys Ser Leu Val His Ser
20
<210> 91
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;信号序列
<400> 91
Met Ile Ser Arg Met Glu Lys Met Thr Met Met Met Lys Ile Leu Ile
1 5 10 15
Met Phe Ala Leu Gly Met Asn Tyr Trp Ser Cys Ser Gly
20 25
<210> 92
<211> 32
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;信号序列
<400> 92
Met Tyr Ser Asn Val Ile Gly Thr Val Thr Ser Gly Lys Arg Lys Val

1	5	10	15
Tyr	Leu	Leu	Ser
Leu	Leu	Leu	Ile
Gly	Phe	Trp	Asp
Cys	Val	Thr	Cys
20	25	30	

<210> 93

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 93

Met Arg Leu Ala Val Gly Ala Leu Leu Val Cys Ala Val Leu Gly Leu

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

Cys Leu Ala

<210> 94

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 94

Met Arg Ala Trp Ile Phe Phe Leu Leu Cys Leu Ala Gly Arg Ala Leu

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

Ala

<210> 95

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 95

Met Phe Ser Phe Val Asp Leu Arg Leu Leu Leu Leu Ala Ala Thr

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

Ala Leu Leu Thr His Gly

20

<210> 96

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 96

Met Lys Leu Val Phe Leu Val Leu Leu Phe Leu Gly Ala Leu Gly Leu

1 5 10 15

Cys Leu Ala

<210> 97

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 97

Met Gly Pro Thr Ser Gly Pro Ser Leu Leu Leu Leu Leu Thr His

1 5 10 15

Leu Pro Leu Ala Leu Gly

20

<210> 98

<211> 18

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 98

Met Ser Leu Ser Ala Phe Thr Leu Phe Leu Ala Leu Ile Gly Gly Thr

1 5 10 15

Ser Gly

<210> 99

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 99

Met Ala Pro His Arg Pro Ala Pro Ala Leu Leu Cys Ala Leu Ser Leu

1 5 10 15

Ala Leu Cys Ala Leu Ser Leu Pro Val Arg Ala

20

25

<210> 100

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 100

Met Trp Ala Thr Leu Pro Leu Leu Cys Ala Gly Ala Trp Leu Leu Gly

1 5 10 15

Val Pro Val Cys Gly Ala

20

<210> 101

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 101

Met Gln Ala Leu Val Leu Leu Leu Cys Ile Gly Ala Leu Leu Gly His

1 5 10 15

Ser Ser Cys

<210> 102

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 102

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

1 5 10 15

Val Phe Gly Glu Gly Ser Ala

20

<210> 103

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 103

Met Gln Pro Ser Ser Leu Leu Pro Leu Ala Leu Cys Leu Leu Ala Ala

1 5 10 15

Pro Ala Ser Ala

20

<210> 104

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 104

Met Ala Pro Phe Glu Pro Leu Ala Ser Gly Ile Leu Leu Leu Leu Trp

1

5

10

15

Leu Ile Ala Pro Ser Arg Ala

20

<210> 105

<211> 31

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 105

Met Leu Arg Gly Pro Gly Pro Gly Leu Leu Leu Leu Ala Val Gln Cys

1

5

10

15

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

20

25

30

<210> 106

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 106

Met Trp Cys Ile Val Leu Phe Ser Leu Leu Ala Trp Val Tyr Ala

1

5

10

15

<210> 107

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 107

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

1 5 10 15

Ala

<210> 108

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 108

Met Trp Gln Leu Trp Ala Ser Leu Cys Cys Leu Leu Val Leu Ala Asn

1 5 10 15

Ala

<210> 109

<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 109

Met Leu Leu Ile Leu Leu Ser Val Ala Leu Leu Ala Phe Ser Ser Ala

1 5 10 15

<210> 110

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;信号序列

<400> 110

Met Trp Lys Arg Trp Leu Ala Leu Ala Leu Ala Leu Val Ala Val Ala

1 5 10 15

Trp Val Arg Ala

20

<210> 111

<211> 1212

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;启动子

<400> 111

```

gtctaacaaa aaagccaaaa acggccagaa tttagcggac aatttactag tctaacactg      60
aaaattacat attgacccaa atgattacat ttcaaaaggt gcctaaaaaa cttcacaaaa      120
cacactcgcc aacccccgagc gcatagtcca aaaccggagc ttcagctact taagaagata      180
ggtacataaaa accgacccaaa gaaactgacg cctcacttat ccctcccctc accagaggtc      240
cggcgcctgt cgattcagga gagcctaccc taggcccga a ccctgcgtcc tgcgacggag      300
aaaagcctac cgcacaccta ccggcaggtg gccccaccct gcattataag ccaacagaac      360
gggtgacgtc acgacacgac gagggcgcgc gctcccaaag gtacgggtgc actgcccac      420
ggcaccgcca taactgccgc ccccgaaca gacgacaaac cgagttctcc agtcagtgac      480
aaacttcacg tcagggtccc cagatggtgc ccagcccat ctcacccgaa taagagcttt      540
cccgcattag cgaaggcctc aagaccttgg gttcttgccg cccaccatgc cccccacctt      600
gtttcaacga cctcacagcc cgctcacaa gcgtcttcca ttcaagactc gggaacagcc      660
gccattttgc tgcgtcccc ccaaccccca gttcagggca accttgctcg cggacccaga      720
ctacagccct tggcgggtctc tccacacgct tccgtccac cgagcggccc ggcggccacg      780
aaagccccgg ccagcccagc agcccgtac tcaccaagtg acgatcacag cgatccacaa      840
acaagaaccg cgacccaaat cccggctgcg acggaactag ctgtgccaca cccggcgcgt      900
ccttatataa tcatcggcgt tcaccgcccc acggagatcc ctccgcagaa tcgccgagaa      960
gggactactt ttctcgcct gttccgctct ctggaagaa aaccagtgcc ctagagtcac      1020
ccaagtcccg tcctaaaatg tccttctgct gatactgggg ttctaaggcc gagtcttatg      1080
agcagcgggc cgctgtcctg agcgtccggg cggaaggatc aggacgctcg ctgcgccctt      1140
cgtctgacgt ggcagcgctc gccgtgagga ggggggcgcc cgcgggaggc gccaaaacce      1200
ggcgcggagg cc                                     1212

```

<210> 112

<211> 1724

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;启动子

<400> 112

```

ggaggctgag gggtagggaa agggcatggg tgtttcatga ggacagagct tccgtttcat      60
gcaatgaaaa gagtttgag acggatggtg gtgactggac tatacactta cacacggtag      120
cgatggtaca ctttgtatta tgtatatatt accacgatct ttttaaagtg tcaaaggcaa      180
atggccaaat ggttccttgt cctatagctg tagcagccat cggtgttag tgacaaagcc      240
cctgagtcaa gatgacagca gccccataa ctctaatec gctctcccgc gtggagtcat      300
ttaggagtag tcgattaga gacaagtcca acatctaate ttccaccctg gccaggcccc      360
cagctggcag cgagggtggg agactccggg cagagcagag ggcgctgaca ttggggcccc      420
gcctggcttg ggtccctctg gcctttcccc aggggccctc tttccttggg gctttcttgg      480
gccgccactg ctcccgtcc tctcccccca tcccacccc tcacccctc gttcttcata      540

```

tcctttctcta	gtgctccctc	cactttcatc	cacccttctg	caagagtgtg	ggaccacaaa	600
ttagtttttca	cctggcctgg	ggacacacgt	gccccacag	gtgctgagtg	actttctagg	660
acagtaatct	gctttaggct	aaaatgggac	ttgatcttct	gtagcccta	atcatcaatt	720
agcagagccg	gtgaaggtgc	agaacctacc	gcctttccag	gcctcctccc	acctctgcca	780
cctccactct	ccttcctggg	atgtgggggc	tggcacacgt	gtggcccagg	gcattggtgg	840
gattgcactg	agctgggtca	ttagcgtaat	cctggacaag	ggcagacagg	gcgagcggag	900
ggccagctcc	ggggctcagg	caaggctggg	ggcttcccc	agacacccca	ctcctcctct	960
gctggacccc	cacttcatag	ggcacttcgt	gttctcaaag	ggcttccaaa	tagcatggtg	1020
gccttgatg	cccagggaag	cctcagagtt	gcttatctcc	ctctagacag	aaggggaatc	1080
tcggtcaaga	gggagaggtc	gccctgttca	aggccacca	gccagctcat	ggcggtaatg	1140
ggacaaggct	ggccagccat	cccacctca	gaagggacce	ggtggggcag	gtgatctcag	1200
aggaggtca	cttctgggtc	tcacattctt	ggatccggtt	ccaggcctcg	gcctaaata	1260
gtctccctgg	gctttcaaga	gaaccacatg	agaaaggagg	attcgggctc	ttagcagttt	1320
caccacccac	ccccagctct	gcaaatcctg	accctgggt	ccacctgccc	caaaggcgga	1380
cgcaggacag	tagaaggga	cagagaacac	ataaacacag	agagggccac	agcggctccc	1440
acagtcaccg	ccaccttcct	ggcggggatg	ggtggggcgt	ctgagtttgg	ttcccagcaa	1500
atccctctga	gccgcccttg	cgggctcgcc	tcaggagcag	gggagcaaga	ggtgggagga	1560
ggaggtctaa	gtcccaggcc	caattaagag	atcaggtagt	gtagggtttg	ggagctttta	1620
aggtgaagag	gcccgggctg	atcccacagg	ccagtataaa	gcgccgtgac	cctcaggtga	1680
tgcgccaggg	ccggctgccg	tcggggacag	ggctttccat	agcc		1724

<210> 113

<211> 806

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;启动子

<400> 113

agatcttccc	cacctagcca	cctggcaaac	tgtctcttct	ctcaaaggcc	caaacatggc	60
ctcccagact	gcaaccccca	ggcagtcagg	ccctgtctcc	acaacctcac	agccacctg	120
gacggaatct	gcttcttccc	acatttgagt	cctcctcage	ccctgagctc	ctctgggcag	180
ggctgtttct	ttccatcttt	gtattcccag	gggcctgcaa	ataaatgttt	aatgaacgaa	240
caagagagtg	aattccaatt	ccatgcaaca	aggattgggc	tcctgggccc	taggctatgt	300
gtctggcacc	agaaacggaa	gctgcaggtt	gcagcccctg	ccctcatgga	gctcctcctg	360
tcagaggagt	gtggggactg	gatgactcca	gaggttaact	gtgggggaac	gaacaggtaa	420
ggggctgtgt	gacgagatga	gagactggga	gaataaacca	gaaagtctct	agctgtccag	480
aggacatagc	acagaggccc	atggtcctta	tttcaaacc	aggccaccag	actgagctgg	540
gaccttggga	cagacaagtc	atgcagaagt	taggggacct	tctcctccct	tttcttgat	600
ggatcctgag	taccttctcc	tccctgacct	caggttctct	cctagtgtca	ccttgcccc	660
tcttagaagc	caattaggcc	ctcagtttct	gcagcgggga	ttaatatgat	tatgaacacc	720

cccaatctcc cagatgctga ttcagccagg agcttaggag ggggaggtca ctttataagg	780
gtctgggggg gtcagaaccc agagtc	806
<210> 114	
<211> 1003	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;启动子	
<400> 114	
tggccctggc attcccctat actgggacat agaaccttca caggaccaag ggcctctcct	60
cccattgatg actgactagg ccatccteta gctacatagg tggtaggagcc tagagtcctt	120
ccttgtgtac tctttgggtg tggttactct gggggtacta ggttagttcg tattgttgtt	180
cctcctaggg gactgcaaac cccttcagct ccttgggtcc tttctctagt tccttctttg	240
gggaccctgt gctcagttca atggatggcc aatttccttc ttaaagccc ctagcagtaa	300
ctgttaggtc tcaatcccaa gacaaatgtc tgaggtgcct atttaacaga tcaaagcgga	360
cctgtcctca ggtaaaccca gtcaactcct gtacctcagt ccctacccat cacaattctc	420
cagcccatga gcttcgggct gtacttcccc aacgggttct cccatttttg gtacatggcc	480
tttttttttt acccttttgg ttcctttggc cttttggctt ttggcttcca gggcttctgg	540
atccccccca acccctccca tacacataca catgtgcact cgtgcactca acccagcaca	600
ggataatgtt cattcttgac ctttccacat acatctggtt atgttctctc tcttatctac	660
aataaatctc ctccactata cttaggagca gttatgttct tcttctttct ttcttttttt	720
tttttttttc attcagtaac atcatcagaa tcccctagct ctggcctacc tcctcagtaa	780
caatcagctg atccctggcc actaatctgt actcactaat ctgttttcca aactcttggc	840
ccctgagcta attatagcag tgcttcatgc caccacccc aaccctatcc ttgttctctg	900
actcccacta atctacacat tcagaggatt gtggatataa gaggctggga ggccagctta	960
gcaaccagag ctcgaggctg atgcgagctt catctcttcc ctc	1003
<210> 115	
<211> 523	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;启动子	
<400> 115	
tttttttttt acccttttgg ttcctttggc cttttggctt ttggcttcca gggcttctgg	60
atccccccca acccctccca tacacataca catgtgcact cgtgcactca acccagcaca	120
ggataatgtt cattcttgac ctttccacat acatctggtt atgttctctc tcttatctac	180
aataaatctc ctccactata cttaggagca gttatgttct tcttctttct ttcttttttt	240
tttttttttc attcagtaac atcatcagaa tcccctagct ctggcctacc tcctcagtaa	300
caatcagctg atccctggcc actaatctgt actcactaat ctgttttcca aactcttggc	360

ccctgagcta attatagcag tgcttcatgc caccaccccc aaccctatcc ttgttctctg	420
actcccacta atctacacat tcagaggatt gtggatataa gaggctggga ggccagctta	480
gcaaccagag ctcgaggctg atgcgagctt catctcttcc ctc	523
<210> 116	
<211> 215	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;启动子	
<400> 116	
tgatccctgg ccactaatct gtactcacta atctgttttc caaactcttg gccctgagc	60
taattatagc agtgcttcat gccaccacc ccaacctat ccttgttctc tgactccac	120
taatctacac attcagagga ttgtggatat aagagctgg gaggccagct tagcaaccag	180
agctcgaggc tgatgcgagc ttcattcttt ccctc	215
<210> 117	
<211> 198	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;启动子	
<400> 117	
gggccccaga agcctgggtg ttgtttgtcc ttctcagggg aaaagtgagg cggccccctg	60
gaggaagggg ccgggcagaa tgatctaatac ggattccaag cagctcagg gattgtcttt	120
ttctagcacc ttcttgccac tcctaagcgt cctccgtgac cccggctggg atttagcctg	180
gtgctgtgtc agccccgg	198
<210> 118	
<211> 142	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;启动子	
<400> 118	
aaggactcct ttgtggaggt cctggcttag ggagtcaagt gacggcggct cagcactcac	60
gtgggcagtg ccagcctcta agagtgggca ggggcactgg ccacagagtc ccagggagtc	120
ccaccagcct agtcgccaga cc	142
<210> 119	
<211> 109	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	

<220>		
<223> 合成构建体;启动子		
<400> 119		
gtcaagtgac ggcggtcag cactcacgtg ggcagtgcc	gcctctaaga gtgggcaggg	60
gcactggcca cagagtccca gggagtccca ccagcctagt	cgccagacc	109
<210> 120		
<211> 93		
<212> DNA		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;启动子		
<400> 120		
ctcagcactc acgtgggcag tgccagctc taagagtggg	caggggcact ggccacagag	60
tcccagggag tcccaccagc ctagtcgcca gac		93
<210> 121		
<211> 1080		
<212> DNA		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> 合成构建体;启动子		
<400> 121		
ttaataaaca tttgggcgat tcttacggcc tctaaagacc	aagaaccact gctgcctaga	60
gctctgctct cttcattgaa caatacaaga ggagtgtgta	ggtagacacc caccacttcc	120
aacagcttag gagagccctt gagtatggat tgatgtatta	aaatttattg aatcacatgc	180
tgagattttc accagctgcc cgtggggatc tgggcattta	ttcccatatt gcaactggctg	240
gctggaagcc agcagcataa actccagggc tgttctgtca	acccccacca gactaccccc	300
gctccaccag ccccggcagg cttctccttc catctctctg	aagcaactta ctgatgggcc	360
ctgccagcca atcacagcca gaataacgta tgatgtcacc	agcagccaat cagagctcct	420
cgtcagcata tgcagaattc tgtcatttta ctagggatg	gaaattccca agcaacacca	480
tcctttttcag ataagggcac tgaggctgag agaggagctg	aaacctaccg ggcgtcacca	540
cacacaggtg gcaaggctgg gaccagaaac caggactgtt	gactgcagcc cggtattcat	600
tctttccata gcccacaggg ctgtcaaaga cccagggcc	tagtcagagg ctctccttc	660
ctggagagtt cctggcacag aagttgaagc tcagcacagc	cccctaaccg ccaactctct	720
ctgcaaggcc tcaggggtca gaacactggg ggagcagatc	ctttagcctc tggattttag	780
ggccatggta gagggggtgt tgccctaaat tccagccctg	gtctcagccc aacaccctcc	840
aagaagaaaat tagaggggcc atggccaggc tgtgctagcc	gttgcttctg agcagattac	900
aagaagggac caagacaagg actcctttgt ggaggtcctg	gcttagggag tcaagtgcg	960
gcggctcagc actcacgtgg gcagtgccag cctctaagag	tgggcagggg cactggccac	1020
agagtcccag ggagtcccac cagcctagtc gccagacctt	ctgtgggatc atcggacca	1080

<210>	122					
<211>	969					
<212>	DNA					
<213>	人工序列(Artificial Sequence)					
<220>						
<223>	合成构建体;调控序列					
<400>	122					
aggttaatttt	ttaaaaagca	gtcaaaaagtc	caagtggccc	ttggcagcat	ttactctctc	60
tgtttgctct	ggttaataat	ctcaggagca	caaacattcc	agatccaggt	taatttttaa	120
aaagcagtca	aaagtccaag	tggcccttgg	cagcatttac	tctctctgtt	tgctctggtt	180
aataatctca	ggagcacaaa	cattccagat	ccggcgcgcc	agggtctggaa	gctacctttg	240
tctagaaggc	tcagaggcac	acaggagttt	ctgggctcac	cctgccccct	tccaaccctt	300
cagttcccat	cctccagcag	ctgtttgtgt	gctgcctctg	aagtccacac	tgaacaaact	360
tcagcctact	catgtcccta	aaatgggcaa	acattgcaag	cagcaaacag	caaacacaca	420
gccctccctg	cctgctgacc	ttggagctgg	ggcagaggtc	agagacctct	ctgggcccct	480
gccacctcca	acatccactc	gaccccttgg	aatttcggtg	gagaggagca	gaggttgtcc	540
tggcgtgggtt	taggtagtgt	gagaggggta	cccggggatc	ttgctaccag	tggaacagcc	600
actaaggatt	ctgcagttag	agcagagggc	cagctaagtg	gtactctccc	agagactgtc	660
tgactcacgc	cacccccctc	accttgga	caggacgctg	tggtttctga	gccaggtaca	720
atgactcctt	tcggtaagt	cagtgggaagc	tgtacactgc	ccaggcaaag	cgtccgggca	780
gcgtaggcgg	gcgactcaga	tcccagccag	tggacttagc	ccctgtttgc	tcctccgata	840
actgggggtga	ccttggttaa	tattcaccag	cagcctcccc	cgttgccccct	ctggatccac	900
tgcttaaata	cggacgagga	cagggccctg	tctcctcagc	ttcaggcacc	accactgacc	960
tgggacagt						969
<210>	123					
<211>	1050					
<212>	DNA					
<213>	人工序列(Artificial Sequence)					
<220>						
<223>	合成构建体;调控序列					
<400>	123					
aggctcagag	gcacacagga	gtttctgggc	tcacctgcc	cccttccaac	ccctcagttc	60
ccatcctcca	gcagctgttt	gtgtgctgcc	tctgaagtcc	acactgaaca	aacttcagcc	120
tactcatgtc	cctaaaatgg	gcaaacattg	caagcagcaa	acagcaaaca	cacagccctc	180
cctgcctgct	gaccttgag	ctggggcaga	ggtcagagac	ctctctgggc	ccatgccacc	240
tccaacatcc	actcgacccc	ttggaatttc	ggtggagagg	agcagaggtt	gtcctggcgt	300
ggttttaggta	gtgtgagagg	gtctagaagg	ctcagaggca	cacaggagtt	tctgggctca	360
ccctgcccc	ttccaacccc	tcagttccca	tcctccagca	gctgtttgtg	tgctgcctct	420
gaagtccaca	ctgaacaaac	ttcagcctac	tcatgtccct	aaaatgggca	aacattgcaa	480

gcagcaaaca gcaaacacac agccctccct gcctgctgac cttggagctg gggcagaggt	540
cagagacctc tctgggcca tgccacctcc aacatccact cgaccccttg gaatttcggt	600
ggagaggagc agaggttgtc ctggcgtggt ttaggtagtg tgagagggt acccggggat	660
cttctacca gtggaacagc cactaaggat tctgcagtga gagcagagg ccagctaagt	720
ggtactctcc cagagactgt ctgactcacg ccacccctc caccttgac acaggacgt	780
gtggtttctg agccaggtag aatgactcct ttcggtaagt gcagtggaag ctgtacactg	840
cccaggcaaa gcgtccgggc agcgtaggcg ggcgactcag atcccagcca gtggacttag	900
cccctgtttg ctctccgat aactggggtg accttggtta atattacca gcagcctccc	960
ccgttgcccc tctggatcca ctgcttaa atcgacgagg acagggccct gtctcctcag	1020
cttcaggcac caccactgac ctgggacagt	1050
<210> 124	
<211> 1089	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控序列	
<400> 124	
aggttaattt ttaaaaagca gtcaaaagtc caagtggccc ttggcagcat ttactctctc	60
tgtttgctct ggtaataat ctccaggagca caaacattcc agatccaggt taatttttaa	120
aaagcagtca aaagtccaag tggcccttg cagcatttac tctctctgtt tgctctggtt	180
aataatctca ggagcacaaa cattccagat ccggcgcgcc agggctggaa gctacctttg	240
acatcatttc ctctgcgaat gcatgtataa tttctacaga acctattaga aaggatcacc	300
cagcctctgc ttttgtacaa ctttccctta aaaaactgcc aattccactg ctgtttggcc	360
caatagttag aactttttcc tgctgcctct tgggtgcttt gcctatggcc cctattctgc	420
ctgctgaaga cactcttgcc agcatggact taaaccctc cagctctgac aatcctcttt	480
ctcttttgtt ttacatgaag ggtctggcag ccaaagcaat cactcaaagt tcaaacctta	540
tcattttttg ctttgttcct cttggccttg gttttgtaca tcagctttga aaataccatc	600
ccagggttaa tgctggggtt aatttataac taagagtgtc ctagttttgc aatacaggac	660
atgctataaaa aatggaaaaga tgttgctttc tgagaggatc ttgctaccag tggaacagcc	720
actaaggatt ctgcagttag agcagagggc cagctaagtg gtactctccc agagactgtc	780
tgactcacgc caccctcc accttgga caggacgtg tggtttctga gccaggtaca	840
gtgactcctt tcgtaagt cagtggaagc tgtacactgc ccaggcaaag cgtccgggca	900
gcgtaggcgg gcgactcaga tcccagccag tggacttagc cctgtttgc tcctccgata	960
actgggtga ccttggttaa tattaccag cagcctccc cgttgcccct ctggatccac	1020
tgttaaata cggacgagga caggccctg tctctcagc ttcaggcacc accactgacc	1080
tgggacagt	1089
<210> 125	
<211> 1430	
<212> DNA	

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;调控序列

<400> 125

```
aggctcagag gcacacagga gtttctgggc tcaccctgcc cccttccaac ccctcagttc      60
ccatcctcca gcagctgttt gtgtgctgcc tctgaagtcc aactgaaca aacttcagcc      120
tactcatgtc cctaaaatgg gcaaacattg caagcagcaa acagcaaaca cacagccctc      180
cctgcctgct gaccttgag ctggggcaga ggtcagagac ctctctgggc ccatgccacc      240
tccaacatcc actcgacccc ttggaatttc ggtggagagg agcagagggt gtcttgccgt      300
ggtttaggta gtgtgagagg gtctagagcc cttagctag cagggttaatt tttaaaaagc      360
agtcaaaagt ccaagtggcc cttggcagca tttactctct ctgtttgctc tggttaataa      420
tctcaggagc acaaacattc cagatccagg ttaattttta aaaagcagtc aaaagtccaa      480
gtggcccttg gcagcattta ctctctctgt ttgctctggt taataatctc aggagcacia      540
acattccaga tccggcgcg cagggtgga agctaccttt gacatcattt cctctgcgaa      600
tgcattgata atttctacag aacctattag aaaggatcac ccagcctctg cttttgtaca      660
actttccctt aaaaaactgc caattccact gctgtttggc ccaatagtga gaactttttc      720
ctgctgcctc ttggtgcttt tgcctatggc ccctattctg cctgctgaag acactcttgc      780
cagcatggac ttaaaccctt ccagctctga caatcctctt tctcttttgt tttacatgaa      840
gggtctggca gccaaagcaa tcactcaaag ttcaaactt atcatttttt gctttgttcc      900
tcttggcctt ggttttgtac atcagctttg aaaataccat cccagggtta atgctggggt      960
taattttataa ctaagagtgc tctagttttg caatacagga catgtataa aaatggaaag     1020
atgttgcttt ctgagaggat cttgctacca gtggaacagc cactaaggat tctgcagtga     1080
gagcagaggg ccagctaagt ggtactctcc cagagactgt ctgactcacg ccaccccctc     1140
caccttggac acaggacgct gtggtttctg agccaggtag agtgactcct ttcggtaagt     1200
gcagtggaaag ctgtacactg cccaggcaaa gcgtccgggc agcgtaggcg ggcgactcag     1260
atcccagcca gtggacttag cccctgtttg ctctccgat aactggggtg accttggtta     1320
atattcacca gcagcctccc ccgttgcccc tctggatcca ctgcttaaata acggacgagg     1380
acagggccct gtctcctcag cttcaggcac caccactgac ctgggacagt     1430
```

<210> 126

<211> 1318

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;调控序列

<400> 126

```
aggttaatTT ttaaaaagca gtcaaaagtc caagtggccc ttggcagcat ttactctctc      60
tgtttgcctt ggtaataaat ctgaggagca caaacattcc agatccaggt taatttttaa     120
aaagcagtc aaagtccaag tggcccttgg cagcatttac tctctctgtt tgctctggtt     180
aataatctca ggagcacaaa cattccagat ccggcgcgcc agggctggaa gctacctttg     240
```

acatcatttc	ctctgcgaat	gcatgtataa	tttctacaga	acctattaga	aaggatcacc	300
cagcctctgc	ttttgtacaa	ctttccctta	aaaaactgcc	aattccactg	ctgtttggcc	360
caatagttag	aactttttcc	tgctgcctct	tggtgctttt	gcctatggcc	cctattctgc	420
ctgctgaaga	cactcttgcc	agcatggact	taaaccctc	cagctctgac	aatcctcttt	480
ctctttttgtt	ttacatgaag	ggtctggcag	ccaaagcaat	cactcaaagt	tcaaacctta	540
tcatttttttg	ctttgttcct	cttggccttg	gtttgttaca	tcagctttga	aaataccatc	600
ccagggttaa	tgctgggggtt	aattttataac	taagagtgc	ctagttttgc	aatacaggac	660
atgctataaaa	aatggaaaaga	tgttgctttc	tgagaggatc	ttgctaccag	tggaacagcc	720
actaaggatt	ctgcagttag	agcagagggc	cagctaagt	gtactctccc	agagactgtc	780
tgactcacgc	cacccctcc	accttggaca	caggacgctg	tggtttctga	gccaggtaca	840
gtgactcctt	tcgtaagt	cagtggaa	gtgactgc	ccaggcaaag	cgtccgggca	900
gcgtaggcgg	gcgactcaga	tcccagccag	tggacttagc	ccctgtttgc	tcctccgata	960
actgggggtga	ccttggttaa	tattcaccag	cagcctcccc	cgttgccct	ctggatccac	1020
tgttaaata	cggacgagga	caggccctg	tctctcagc	ttcaggcacc	accactgacc	1080
tgggacagta	aaacaggtaa	gtccgctgtt	tgtgtgctgc	ctctgaagtc	cacactgaac	1140
aaacttcagc	ctactcatgt	ccctaaaatg	ggcaaacatt	gcaagcagca	aacagcaaac	1200
acacagccct	ccctgcctgc	tgaccttgga	gctggggcag	aggtcagaga	cctctctggc	1260
ctctactaac	catgttcatt	ttttcttttt	ttttctacag	gtcctgggtg	acgaacag	1318

<210> 127

<211> 1579

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;调控序列

<400> 127

aggctcagag	gcacacagga	gtttctgggc	tcaccctgcc	cccttccaac	ccctcagttc	60
ccatcctcca	gcagctgttt	gtgtgctgcc	tctgaagtcc	acactgaaca	aacttcagcc	120
tactcatgtc	cctaaaatgg	gcaaacattg	caagcagcaa	acagcaaaca	cacagccctc	180
cctgcctgct	gaccttggag	ctggggcaga	ggtcagagac	ctctctgggc	ccatgccacc	240
tccaacatcc	actcgacccc	ttggaatttc	ggtggagagg	agcagagggt	gtcctggcgt	300
ggtttaggta	gtgtgagagg	gccactacgg	gtttaggctg	cccatgtaag	gaggcaaggc	360
ctggggacac	ccgagatgcc	tggttataat	taaccagac	atgtggctgc	ccccccccc	420
cccaacacct	gctgcctcta	aaaataaccc	tgtccctggg	ggatcccact	acgggttttag	480
gctgcccatt	taaggaggca	aggcctgggg	acacccgaga	tgcttggtta	taattaaccc	540
agacatgtgg	ctgccccccc	ccccccaac	acctgctgcc	tctaaaaata	accctgtccc	600
tggtggatcc	cactacgggt	ttaggtgcc	catgtaagga	ggcaaggcct	ggggacaccc	660
gagatgcctg	gttataatta	accagacat	gtggctgccc	ccccccccc	caacacctgc	720
tgctctaaa	aataaccctg	tccctgggtg	atccctgca	tgcaagatc	ttcgaacaag	780
gctgtggggg	actgagggca	ggctgtaaca	ggcttggggg	ccagggtta	tacgtgcctg	840

ggactcccaa agtattactg ttccatgttc ccggcgaagg gccagctgtc ccccgccagc	900
tagactcagc acttagttta ggaaccagtg agcaagtcag cccttggggc agcccataca	960
aggccatggg gctgggcaag ctgcacgcct gggtccgggg tgggcacggt gcccgggcaa	1020
cgagctgaaa gctcatctgc tctcaggggc ccctccctgg ggacagcccc tcctggctag	1080
tcacaccctg taggctcctc tatataaccc aggggcacag gggctgccct cattctacca	1140
ccacctccac agcacagaca gacactcagg agccagccag cgtcgagatc ttgctaccag	1200
tggaacagcc actaaggatt ctgcagttag agcagagggc cagctaagtg gtactctccc	1260
agagactgtc tgactcacgc caccctctcc accttggaca caggacgctg tggtttctga	1320
gccaggtaca gtgactcctt tcggtaagtg cagtgggaagc tgtacactgc ccaggcaaag	1380
cgtccgggca gcgtaggcgg gcgactcaga tcccagccag tggacttagc ccctgtttgc	1440
tcctccgata actgggggtga ccttgggttaa tattcaccag cagcctcccc cgttgccctt	1500
ctggatccac tgcttaaata cggacgagga cagggcctg tctctcagc ttcaggcacc	1560
accactgacc tgggacagt	1579
<210> 128	
<211> 1080	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控序列	
<400> 128	
aggctcagag gcacacagga gtttctgggc tcacctgcc cccttccaac ccctcagttc	60
ccatcctcca gcagctgttt gtgtgctgcc tctgaagtcc aactgaaca aacttcagcc	120
tactcatgtc cctaaaatgg gcaaacattg caagcagcaa acagcaaaca cacagccctc	180
cctgcctgct gaccttggag ctggggcaga ggtcagagac ctctctgggc ccatgccacc	240
tccaacatcc actcgacccc ttggaatttc ggtggagagg agcagagggt gtcttgccgt	300
ggttttaggta gtgtgagagg ggtacccggg gatcttgcta ccagtctaga ggccgtccgc	360
cctcggcacc atcctcacga caccctaaata tggcgacggg tgaggaatgg tggggagtta	420
tttttagagc ggtgaggaag gtgggcaggc agcaggtgtt ggcgctctaa aaataactcc	480
cgggagttat ttttagagcg gaggaatggg ggacacccaa atatggcgac ggttcctcac	540
ccgtcgccat atttgggtgt ccgccctcgg ccggggccgc attcctgggg gccgggcggt	600
gtccccgcc gcctcgataa aaggctccgg ggccggcggc ggcccacgag ctaccgggag	660
gagcgggagg cgccaagcgt gagtatcgat cttgctacca gtggaacagc cactaaggat	720
tctgcagtga gagcagaggg ccagctaagt ggtactctcc cagagactgt ctgactcacg	780
ccacccctc caccctggac acaggacgct gtggtttctg agccaggtac agtgactcct	840
ttcgtaagt gcagtgaag ctgtacactg cccaggcaaa gcgtccgggc agcgtaggcg	900
ggcgactcag atcccagcca gtggacttag cccctgtttg ctctccgat aactgggggtg	960
accttggtta atattcacca gcagcctccc ccgttgcccc tctggatcca ctgcttaaat	1020
acggacgagg acagggccct gtctcctcag cttcaggcac caccactgac ctgggacagt	1080
<210> 129	

<211>	568	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	129	
gaatggtgga	cacccaaata	60
ccctcggccg	gggccgcatt	120
gctccggggc	cggcggcggc	180
tgctaccagt	ggaacagcca	240
tactctccca	gagactgtct	300
ggttttctgag	ccaggtacag	360
caggcaaagc	gtccgggcag	420
cctgtttgct	cctccgataa	480
gttgccccctc	tggatccact	540
tcaggcacca	ccactgacct	568
<210>	130	
<211>	895	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	130	
aggctcagag	gcacacagga	60
ccatcctcca	gcagctgttt	120
tactcatgtc	cctaaaatgg	180
cctgcctgct	gaccttgag	240
tccaacatcc	actcgacccc	300
ggtttaggta	gtgtgagagg	360
tcacccgtcg	ccatatttgg	420
cggtgctccc	gcccgcctcg	480
ggaggagcgg	gaggcgccaa	540
agtgagagca	gagggccagc	600
ccctccacct	tggacacagg	660
taagtgcagt	ggaagctgta	720
ctcagatccc	agccagtgga	780
ggttaatat	caccagcagc	840
cgaggacagg	gccctgtctc	895
<210>	131	

<211>	1291	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	131	
aggctcagag	gcacacagga	gtttctgggc
ccatcctcca	gcagctgttt	gtgtgctgcc
tactcatgtc	cctaaaatgg	gcaaacattg
cctgcctgct	gaccttggag	ctggggcaga
tccaacatcc	actcgacccc	ttggaatttc
ggtttaggta	gtgtgagagg	gccactacgg
ctggggacac	ccgagatgcc	tggttataat
cccaacacct	gctgcctcta	aaaataaccc
tcttgaaca	aggctgtggg	ggactgaggg
tatacgtgcc	tgggactccc	aaagtattac
tccccgcca	gctagactca	gcacttagtt
gcagcccata	caaggccatg	gggctgggca
gtgcccgggc	aacgagctga	aagctcatct
cctcctggct	agtcacaccc	tgtaggctcc
ctcattctac	caccacctcc	acagcacaga
tcttgctacc	agtgaacag	ccactaagga
tggtactctc	ccagagactg	tctgactcac
tgtggtttct	gagccaggta	cagtactcc
gccaggcaa	agcgtccggg	cagcgtaggc
gccccgtgtt	gctcctccga	taactggggg
cccgttgccc	ctctggatcc	actgcttaaa
gcttcaggca	ccaccactga	cctgggacag
		t
		60
		120
		180
		240
		300
		360
		420
		480
		540
		600
		660
		720
		780
		840
		900
		960
		1020
		1080
		1140
		1200
		1260
		1291
<210>	132	
<211>	1147	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	132	
aggctcagag	gcacacagga	gtttctgggc
ccatcctcca	gcagctgttt	gtgtgctgcc
tactcatgtc	cctaaaatgg	gcaaacattg
cctgcctgct	gaccttggag	ctggggcaga
		ggtcagagac
		ctctctgggc
		ccatgccacc
		240

tccaacatcc	actcgacccc	ttggaatttc	ggtggagagg	agcagaggtt	gtcctggcgt	300
ggttttaggta	gtgtgagagg	gccctgcatg	cgaagatctt	cgaacaaggc	tgtgggggac	360
tgagggcagg	ctgtaacagg	cttggggggc	agggcttata	cgtgcctggg	actcccaaag	420
tattactgtt	ccatgttccc	ggcgaagggc	cagctgtccc	ccgccagcta	gactcagcac	480
ttagtttagg	aaccagtgag	caagtcagcc	cttggggcag	cccatacaag	gccatggggc	540
tgggcaagct	gcacgcctgg	gtccgggggtg	ggcacgggtgc	ccgggcaacg	agctgaaagc	600
tcattctgctc	tcagggggccc	ctccctgggg	acagccccctc	ctggctagtc	acaccctgta	660
ggctcctcta	tataaccccag	gggcacaggg	gctgcctca	ttctaccacc	acctccacag	720
cacagacaga	cactcaggag	ccagccagcg	tcgagatctt	gctaccagtg	gaacagccac	780
taaggattct	gcagtgagag	cagagggcca	gctaagtgg	actctcccag	agactgtctg	840
actcacgcca	ccccctccac	cttggacaca	ggacgctgtg	gtttctgagc	caggtacagt	900
gactcctttc	ggtaagtgca	gtggaagctg	tacactgccc	aggcaaagcg	tccgggcagc	960
gtaggcgggc	gactcagatc	ccagccagtg	gacttagccc	ctgtttgctc	ctccgataac	1020
tggggtgacc	ttggttaata	ttcaccagca	gcctcccccg	ttgcccctct	ggatccactg	1080
cttaaatacg	gacgaggaca	gggcctgtc	tcctcagctt	caggcaccac	cactgacctg	1140
ggacagt						1147

<210> 133

<211> 1490

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;调控序列

<400> 133

aggctcagag	gcacacagga	gtttctgggc	tcaccctgcc	cccttccaac	ccctcagttc	60
ccatcctcca	gcagctgttt	gtgtgctgcc	tctgaagtcc	aaactgaaca	aaacttcagcc	120
tactcatgtc	cctaaaatgg	gcaaacattg	caagcagcaa	acagcaaaca	cacagccctc	180
cctgcctgct	gaccttgag	ctggggcaga	ggtcagagac	ctctctgggc	ccatgccacc	240
tccaacatcc	actcgacccc	ttggaatttc	ggtggagagg	agcagaggtt	gtcctggcgt	300
ggttttaggta	gtgtgagagg	gcccttcaga	ttaaaaataa	ctgaggtaag	ggcctgggta	360
ggggagggtg	tgtgagacgc	tcctgtctct	cctctatctg	cccatcggcc	ctttggggag	420
gaggaatgtg	cccaaggact	aaaaaaaggc	catggagcca	gaggggag	ggcaacagac	480
ctttcatggg	caaaccttgg	ggccctgctg	aagctttggc	ccactacggg	tttaggctgc	540
ccatgtaagg	aggcaaggcc	tggggacacc	cgagatgcct	ggttataatt	aaccagaca	600
tgtggctgcc	cccccccccc	ccaacacctg	ctgcctctaa	aaataaccct	gtccctgggtg	660
gatccccctgc	atgcgaagat	cttcgaacaa	ggctgtgggg	gactgagggc	aggctgtaac	720
aggcttgggg	gccagggtt	atacgtgcct	gggactccca	aagtattact	gttccatgtt	780
cccggcgaag	ggccagctgt	ccccgccag	ctagactcag	cacttagttt	aggaaccagt	840
gagcaagtca	ggccttgggg	cagcccatac	aaggccatgg	ggctgggcaa	gctgcacgcc	900
tgggtccggg	gtgggcacgg	tgcccgggca	acgagctgaa	agctcatctg	ctctcagggg	960

ccccccctg gggacagccc ctcctggcta gtcacaccct gtaggctcct ctatataacc	1020
caggggcaca ggggctgccc tcattctacc accacctcca cagcacagac agacactcag	1080
gagccagcca gcgtcgagat cttgctacca gtggaacagc cactaaggat tctgcagtga	1140
gagcagaggg ccagctaagt ggtactctcc cagagactgt ctgactcacg ccaccccctc	1200
caccttggac acaggacgct gtggtttctg agccaggtag agtgactcct ttcggtaagt	1260
gcagtggaag ctgtacactg cccaggcaaa gcgtccgggc agcgtaggcg ggcgactcag	1320
atcccagcca gtggacttag cccctgtttg ctctccgat aactggggtg accttggtta	1380
atattcacca gcagcctccc ccgttgcccc tctggatcca ctgcttaaata acggacgagg	1440
acagggccct gtctcctcag cttcaggcac caccactgac ctgggacagt	1490
<210> 134	
<211> 723	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控序列	
<400> 134	
aggctcagag gcacacagga gtttctgggc tcaccctgcc cccttccaac ccctcagttc	60
ccatcctcca gcagctgttt gtgtgctgcc tctgaagtcc aactgaaca aacttcagcc	120
tactcatgtc cctaaaatgg gcaaacattg caagcagcaa acagcaaaca cacagccctc	180
cctgcctgct gaccttgag ctggggcaga ggtcagagac ctctctgggc ccatgccacc	240
tccaacatcc actcgacccc ttggaatttc ggtggagagg agcagagggt gtcttgccgt	300
ggttttaggta gtgtgagagg ggtacccggg gatcttgcta ccagtggaac agccactaag	360
gattctgcag tgagagcaga gggccagcta agtggtactc tcccagagac tgtctgactc	420
acgccacccc ctccaccttg gacacaggac gctgtggttt ctgagccagg tacaatgact	480
cctttcggta agtcagctgg aagctgtaca ctgcccaggc aaagcgtccg ggcagcgtag	540
gcgggcgact cagatcccag ccagtggact tagcccctgt ttgctcctcc gataactggg	600
gtgaccttgg ttaatatcca ccagcagcct ccccgttgc ccctctggat ccactgctta	660
aatacggacg aggacagggc cctgtctcct cagcttcagg caccaccact gacctgggac	720
agt	723
<210> 135	
<211> 100	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控序列	
<400> 135	
aggttaattt ttaaaaagca gtcaaaagtc caagtggccc ttggcagcat ttactctctc	60
tgtttgcctt ggtaataat ctcaggagca caaacattcc	100
<210> 136	

<211>	200	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	136	
	aggttaatttt ttaaaaagca gtcaaaagtc caagtggccc ttggcagcat ttactctctc	60
	tgtttgctct ggtaataat ctcaggagca caaacattcc aggttaattt ttaaaaagca	120
	gtcaaaagtc caagtggccc ttggcagcat ttactctctc tgtttgctct ggtaataat	180
	ctcaggagca caaacattcc	200
<210>	137	
<211>	321	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	137	
	aggctcagag gcacacagga gtttctgggc tcaccctgcc cccttccaac ccctcagttc	60
	ccatcctcca gcagctgttt gtgtgctgcc tctgaagtc aactgaaca aacttcagcc	120
	tactcatgtc cctaaaatgg gcaaacattg caagcagcaa acagcaaaca cacagccctc	180
	cctgcctgct gaccttggag ctggggcaga ggtcagagac ctctctgggc ccatgccacc	240
	tccaacatcc actcgacccc ttggaatttc ggtggagagg agcagaggtt gtcctggcgt	300
	ggttttaggta gtgtgagagg g	321
<210>	138	
<211>	554	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	138	
	aggctcagag gcacacagga gtttctgggc tcaccctgcc cccttccaac ccctcagttc	60
	ccatcctcca gcagctgttt gtgtgctgcc tctgaagtc aactgaaca aacttcagcc	120
	tactcatgtc cctaaaatgg gcaaacattg caagcagcaa acagcaaaca cacagccctc	180
	cctgcctgct gaccttggag ctggggcaga ggtcagagac ctctctgggc ccatgccacc	240
	tccaacatcc actcgacccc ttggaatttc ggtggagagg agcagaggtt gtcctggcgt	300
	ggttttaggta gtgtgagagg gtctagaagg ctcagaggca cacaggagtt tctgggctca	360
	ccctgcccc ttccaacccc tcagttccca tcctccagca gctgtttgtg tgctgcctct	420
	gaagtccaca ctgaacaaac ttcagcctac tcatgtccct aaaatgggca aacattgcaa	480
	gcagcaaaca gcaaacacac agccctccct gcctgctgac cttggagctg gggcagaggt	540

cagagacctc tctg	554
<210> 139	
<211> 393	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控序列	
<400> 139	
gatcttgcta ccagtggaac agccactaag gattctgcag tgagagcaga gggccagcta	60
agtggtaactc tcccagagac tgtctgactc acgccacccc ctccaccttg gacacaggac	120
gctgtggttt ctgagccagg tacaatgact cttttcgcta agtgcagtgg aagctgtaca	180
ctgcccaggc aaagcgtccg ggcagcgtag gcgggcgact cagatcccag ccagtggact	240
tagccccctgt ttgtcctcc gataactggg gtgaccttgg ttaatattca ccagcagcct	300
cccccgttgc ccctctggat ccactgctta aatacggacg aggacagggc cctgtctcct	360
cagcttcagg caccaccact gacctgggac agt	393
<210> 140	
<211> 393	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控序列	
<400> 140	
gatcttgcta ccagtggaac agccactaag gattctgcag tgagagcaga gggccagcta	60
agtggtaactc tcccagagac tgtctgactc acgccacccc ctccaccttg gacacaggac	120
gctgtggttt ctgagccagg tacagtgact cttttcgcta agtgcagtgg aagctgtaca	180
ctgcccaggc aaagcgtccg ggcagcgtag gcgggcgact cagatcccag ccagtggact	240
tagccccctgt ttgtcctcc gataactggg gtgaccttgg ttaatattca ccagcagcct	300
cccccgttgc ccctctggat ccactgctta aatacggacg aggacagggc cctgtctcct	360
cagcttcagg caccaccact gacctgggac agt	393
<210> 141	
<211> 144	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 合成构建体;调控序列	
<400> 141	
ccactacggg tttaggctgc ccatgtaagg aggcaaggcc tggggacacc cgagatgcct	60
ggttataatt aaccagaca tgttgctgcc ccccccccc ccaacacctg ctgcctctaa	120
aaataaccct gtccctggtg gatc	144

<210>	142	
<211>	288	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	142	
	ccactacggg tttaggctgc ccatgtaagg aggcaaggcc tggggacacc cgagatgcct	60
	ggttataatt aaccagaca tgtggctgcc ccccccccc ccaacacctg ctgcctctaa	120
	aaataaccct gtccctggtg gatcccacta cgggtttagg ctgcccattgt aaggaggcaa	180
	ggcctgggga caccgagat gcctggttat aattaacca gacatgtggc tgcccccccc	240
	ccccccaaca cctgctgcct ctaaaaataa ccctgtccct ggtggatc	288
<210>	143	
<211>	432	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	143	
	ccactacggg tttaggctgc ccatgtaagg aggcaaggcc tggggacacc cgagatgcct	60
	ggttataatt aaccagaca tgtggctgcc ccccccccc ccaacacctg ctgcctctaa	120
	aaataaccct gtccctggtg gatcccacta cgggtttagg ctgcccattgt aaggaggcaa	180
	ggcctgggga caccgagat gcctggttat aattaacca gacatgtggc tgcccccccc	240
	ccccccaaca cctgctgcct ctaaaaataa ccctgtccct ggtggatccc actacgggtt	300
	taggctgccc atgtaaggag gcaaggcctg gggacaccgc agatgcctgg ttataattaa	360
	cccagacatg tggtgcccc ccccccccc aacacctgct gcctctaaaa ataaccctgt	420
	ccctggtgga tc	432
<210>	144	
<211>	199	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控序列	
<400>	144	
	cccttcagat taaaaataac tgaggtaagg gcctgggtag gggaggtggt gtgagacgct	60
	cctgtctctc ctctatctgc ccatcgcccc ttggggagg aggaatgtgc ccaaggacta	120
	aaaaaaggcc atggagccag aggggcgagg gcaacagacc ttcatgggc aaaccttggg	180
	gccctgctga agctttggc	199
<210>	145	

<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;铰链
<400> 145
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
Pro Glu Leu Leu Gly Gly
20
<210> 146
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;铰链
<400> 146
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Leu
1 5 10
<210> 147
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;铰链
<400> 147
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr
1 5 10
<210> 148
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;铰链
<400> 148
Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
1 5 10 15
<210> 149
<211> 16

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;铰链

<400> 149

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Leu Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

<210> 150

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;铰链

<400> 150

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

20 25

<210> 151

<211> 27

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;铰链

<400> 151

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Leu Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10 15

Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu

20 25

<210> 152

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;铰链

<400> 152

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu

20

<210> 153
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;铰链
<400> 153

Cys Cys Pro Cys Pro Ala

1 5

<210> 154
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;铰链
<400> 154

Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10

<210> 155
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;铰链
<400> 155

Asp Lys Thr His Leu Cys Pro Pro Cys Pro Ala

1 5 10

<210> 156
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial Sequence)
<220>
<223> 合成构建体;铰链
<400> 156

Asp Lys Thr His Leu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly

1 5 10 15

Gly Pro Ser Val Phe Leu

20

<210>	157	
<211>	97	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;调控元件	
<400>	157	
	gtaagtttag tctttttgtc ttttatttca ggtcccgat ccggtggtgg tgcaaataca	60
	agaactgctc ctcaaggat gttgccttta cttctag	97
<210>	158	
<211>	6	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;切割	
<400>	158	
	Leu Ser Pro Arg Gly Ser	
	1 5	
<210>	159	
<211>	663	
<212>	DNA	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	合成构建体;启动子	
<400>	159	
	gacgacattg attattgact agttattaat agtaataat tacgggggtca ttagttcata	60
	gcccataatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgctt ggctgaccgc	120
	ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag	180
	ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac	240
	atcaagtgtg tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggg aaatggcccc	300
	cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg	360
	tattagtcac cgctattacc atggtcgagg tgagccccac gttctgcttc actctcccca	420
	tctccccccc ctccccaccc ccaattttgt atttatttat tttttaatta ttttgtgcag	480
	cgatggggggc gggggggggg gggggggcgcg cgccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc	540
	ggggcggggc gaggcggaga ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt	600
	ttccttttat ggcgaggcgg cggcggcggc ggccctataa aaagcgaagc gcgcggcggg	660
	cgg	663
<210>	160	
<211>	762	

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;启动子

<400> 160

gacgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacgggggtca ttagttcata	60
gcccataatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgccct ggctgaccgc	120
ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag	180
ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac	240
atcaagtgtg tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggg aaatggcccc	300
cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg	360
tattagtcac cgctattacc atggctcagg tgagccccac gttctgcttc actctcccca	420
tctccccccc ctccccaccc ccaattttgt atttatttat tttttaatta ttttgtgcag	480
cgatgggggc gggggggggg gggggggcgcg cgccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc	540
ggggcggggc gaggcggaga ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt	600
ttccttttat ggcgaggcgg cggcgggcgg ggcctataa aaagcgaagc gcgcggcggg	660
cgggagtcgc tgcgcgctgc cttcgccccg tgccccgctc cgccgccgcc tcgcgccgcc	720
cgccccggct ctgactgacc gcgttactcc cacaggtgag cg	762

<210> 161

<211> 935

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 合成构建体;启动子

<400> 161

gtcgacaaat tctgtcattt tactagggtg atgaaattcc caagcaacac catccttttc	60
agataagggc actgaggctg agagaggagc tgaaacctac ccgggggtcac cacacacagg	120
tggcaaggct gggaccagaa accaggactg ttgactgcag ccggtattc attctttcca	180
tagcccacag ggctgtcaaa gaccccaggg ctagtcaga ggctcctcct tcctggagag	240
ttcctggcac agaagttgaa gctcagcaca gcccctaac cccaactct ctctgcaagg	300
cctcaggggt cagaacactg gtggagcaga tccttttagc tctggatttt agggccatgg	360
tagagggggg gttgccctaa attccagccc tggctcagc ccaacaccct ccaagaagaa	420
attagagggg ccatggccag gctgtgctag ccgttgcttc tgagcagatt acaagaaggg	480
actaagacaa ggactccttt gtggaggtcc tggcttaggg agtcaagtga cggcggtca	540
gcactcacgt gggcagtgcc agcctctaag agtgggcagg ggcactggcc acagagtccc	600
agggagtccc accagcctag tcgccagatc tagagggccc cagaagcctg gtggttgttt	660
gtcctttctca ggggaaaagt gaggcggccc cttggaggaa ggggccgggc agaagatcta	720
atcgatttcc aagcagctca ggggattgtc tttttctagc accttcttgc cactcctaag	780
cgctctccgt gaccccggct gggatttagc ctggtgctgt gtcagccccg ggctcccagg	840

ggcttcccag	tgggtccccag	gaaccctcga	cagggccagg	gcgtctctct	cgtccagcaa	900
gggcagggac	gggccacagg	ccaagggcct	taagc			935

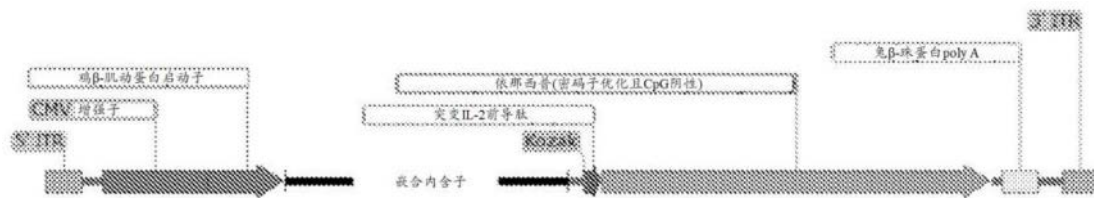


图1

依那西普TNFR2:Fc融合构建体:

前导序列:

MYRMQLLLIALSLALVTNS (SEQ ID NO:62)

依那西普TNFR2:Fc融合蛋白(SEQ ID NO:10):

LPAQVAF¹TPY APEPGSTCRL REYYDQTAQM CCSKCSPGQH AKVFCTKTS TVCDSCEDST YTQLWNWVPE
CLSCGSRCS DQVETQACTR EQNRICTRP GWYCALSKQE GCRLCAPLRK CRPGFGVARP GTETSDVVCK
PCAPGTFS²NT TSSTDICRPH QICNVVAIPG NASMDAVCTS TSP³TRSMAPG AVHLPQPVST RSQHTQPTPE
PSTAP⁴TSFL LPMGSPPAE GSTGDEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFEFKPKDT LMISRTPEVT
CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNATK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS
DGSFFLYSKL TVDKSRWQOG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK

文字说明:

p75 TNFR的细胞外结构域未突出显示

IgG1 Fc结构域以灰色突出显示

O-糖基化位点加下划线并突出显示

(S/T)XN或NX(S/T)=非共有天冬酰胺(N)糖基化位点

EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG = 铰链区 (SEQ ID NO:145)

图2A

EYS606 TNFR1:Fc融合构建体:

前导序列 (SEQ ID NO: 62):

MYRMQLLLIALSLALVTNS

EYS606 TNFR1:Fc融合蛋白 (SEQ ID NO:12):

MGLSTVPDLLLPLVLELLVGIYPSGVIGLVPHLGDREKRDVCPQGYIHPQ¹NNSICCTKCHKGTLYLND²CPGPGQ
DTDRECESGSFTA³SENHLRHCLSCSKCRKEMQVEISSCTVDRD⁴TVCGRKNQYRHYWSEN⁵LFQCFNCSLCL⁶NGTV
HLSCQEKQNTVCTCHAGFFLRENECVSCSNCKKSL⁷ECTKLCLPQIENVKGTEDSGT⁸TLVPRG⁹DKTHTCPPCPAPEL
LGGPSVFLFEFKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATK¹⁰PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY¹¹TLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTPPVLDSDGS

文字说明:

p55 TNFR的细胞外结构域以粗体显示

IgG1 Fc结构域以灰色突出显示

O-糖基化位点突出显示并加下划线

(S/T)XN或NX(S/T) = 共有/非共有天冬酰胺(N)糖基化位点

LVPRGS: 凝血酶切割位点 (SEQ ID NO:8)

DKTHTCPPCPAPELLGG = 铰链区 (SEQ ID NO:21)

图2B

AAV1	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV2	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWKKLPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV3	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV3-3	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV3B	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV4	-MTDGYLPDWLEDNLSEGVREWWALQPGAPKPKANQQKQDDNARGVLVLPGYKYLGPFGNGLD	59
AAV4-4	-MTDGYLPDWLEDNLSEGVREWWALQPGAPKPKANQQKQDDNARGVLVLPGYKYLGPFGNGLD	59
AAV5	MSFVDHPPDWLEE-VGEGLREFLGLEAGPPKPKPNQQHQDQARGVLVLPGYNYLGPFGNGLD	59
AAV6	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV7	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV8	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV9	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDNARGVLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
AAV9e	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDNARGVLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
rh.10	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
rh.20	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
rh.39	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
rh.73	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
rh.74v1	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
rh.74v2	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
hu.12	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWKKLPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
hu.21	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWKKLPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
hu.26	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWKKLPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
hu.37	MAADGYLPDWLEDNLSEGIREWDLKPGAPKPKANQQKQDDGRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
hu.51	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWKKLPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60
hu.53	MAADGYLPDWLEDTLSEGIQWKKLPGPPPPKPAERHKDDSRGLVLPGYKYLGPFGNGLD	60

.: *****: .: **:*::: * : * * * * : : : *: *****: ***** *

图3

AAV1	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV2	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV3	KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV3-3	KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV3B	KGEPVNEADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV4	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	119
AAV4-4	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	119
AAV5	RGEFVNRADEVAREHDI SYNEQLKAGDNPYLKYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	119
AAV6	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV7	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV8	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV9	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV9e	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLKYNHADAQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.10	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.20	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.39	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.73	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.74v1	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
rh.74v2	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.12	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.21	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.26	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.37	KGEPVNAADAAALEHDKAYDQQLKAGDNPYLRYNHADAQERLQEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.51	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
hu.53	KGEPVNEADAAALEHDKAYDRQLDSGDNPYLKYNHADAQERLKEDTSFGGNLGRAVFQ	120
AAV1	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS	179
AAV2	AKKRVLEPLGLVEEPVKTA PGKKRPVEHSPV-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
AAV3	AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKRGAVDQSPQ-EPDSSSGVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS	179
AAV3-3	AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKRGAVDQSPQ-EPDSSSGVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS	179
AAV3B	AKKRILEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVDQSPQ-EPDSSSGVGKSGKQPARKRLNFGQTGDS	179
AAV4	AKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKRPLIESPQ-QPDSSTGIGKKGKQPAKKKLVEFEDTGA	178
AAV4-4	AKKRVLEPLGLVEQAGETAPGKKRPLIESPQ-QPDSSTGIGKKGKQPAKKKLVEFEDTGA	178
AAV5	AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPTGRIDDHFPKRKKARTEEDSKP-----STSSDA	168
AAV6	AKKRVLEPFGLVEEGAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS	179
AAV7	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPAKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
AAV8	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
AAV9	AKKRILLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDT	179
AAV9e	AKKRILLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEQSPQ-EPDSSSAGIGKSGAQPAKKRLNFGQTGDT	179
rh.10	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDS	180
rh.20	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKTGQQPAKKRLNFGQTGDS	180
rh.39	AKKRVLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDS	180
rh.73	AKKRVLEPLGLVEEGAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPARKRLNFGQTGDS	180
rh.74v1	AKKRVLEPLGLVESPVKTA PGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDS	180
rh.74v2	AKKRVLEPLGLVESPVKTA PGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDS	180
hu.12	AKKRVLEPLGLVEEPVKTA PGKKRPVEHSPV-EPDSSSGTGKAGHQPAKKRLNFGQTGDA	179
hu.21	AKKRILEPLGLVEEPVKTA PGKKRPVEHSPA-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
hu.26	AKKRILEPLGLVEEPVKTA PGKKRPVEHSPA-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
hu.37	AKKRVLEPLGLVEEAAKTAPGKKRPVEPSPQRS PDSSTGIGKKGQQPAKKRLNFGQTGDS	180
hu.51	AKKRVLEPLGLVGEVPKTA PGKKRPVEHSPV-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
hu.53	AKKRVLEPLGLVEEPVKTA PGKKRPVEHSPA-EPDSSSGTGKAGQQPARKRLNFGQTGDA	179
	****:***:****. :*** * * . : .*	..

图3(续)

AAV1	ESVP-DPQPLGEPPATPAAVGPTTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWCHDSTWLGDR	238
AAV2	DSVP-DPQPLGQPPAAPSLGNTMTATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWMDGR	238
AAV3	ESVP-DPQPLGEPPAAPTSLGNTMTASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSQWLGR	238
AAV3-3	ESVP-DPQPLGEPPAAPTSLGNTMTASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSQWLGR	238
AAV3B	ESVP-DPQPLGEPPAAPTSLGNTMTASGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSQWLGR	238
AAV4	GDGP----PEGSTSGAMS--DDSEMRAAAGGAAVEGGQADGVGNASGNWCHDSTWSEGH	232
AAV4-4	GDGP----PEGSTSGAMS--DDSEMRAAAGGAAVEGGQADGVGNASGNWCHDSTWSEGH	232
AAV5	EAGPSGSQQLQIPAPASSLGADTMTASGGGGPLGDNQADGVGNASGNWCHDSTWMDGR	228
AAV6	ESVP-DPQPLGEPPATPAAVGPTTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWCHDSTWLGDR	238
AAV7	ESVP-DPQPLGEPPAAPSVGSGTVAAGGGAPMADNNEGADGVGNASGNWCHDSTWLGDR	239
AAV8	ESVP-DPQPLGEPPAAPSGVGPNTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWLGDR	239
AAV9	ESVP-DPQPIGEPPAAPSGVSLTMAAGGGAPVADNNEGADGVGNSSGNWCHDSQWLGR	238
AAV9e	ESVP-DPQPIGEPPAAPSGVSLTMAAGGGAPVADNNEGADGVGNSSGNWCHDSQWLGR	238
rh.10	ESVP-DPQPIGEPPAGPSGLSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWLGDR	239
rh.20	ESVP-DPQPIGEPPAGPSGLSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWLGDR	239
rh.39	ESVP-DPQPIGEPPAGPSGLSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWLGDR	239
rh.73	ESVP-DPQPLGEPPAAPSVGSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWLGDR	239
rh.74v1	ESVP-DPQPIGEPPAGPSGLSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWLGDR	239
rh.74v2	ESVP-DPQPIGEPPAGPSGLSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWLGDR	239
hu.12	DSVP-DPQPLGQPPAAPTSLGNTMTATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWMDGR	238
hu.21	DSVP-DPQPLGQPPAAPTSLGNTMTATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWMDGR	238
hu.26	DSVP-DPQPLGQPPAAPTSLGNTMTATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWMDGR	238
hu.37	ESVP-DPQPIGEPPAGPSGLSGTMAAGGGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWLGDR	239
hu.51	DSVP-DPQPLGQPPAAPTSLGNTMTATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSTWMDGR	238
hu.53	DSVP-DPQPLRQPPAAPTSLGNTMTATGSGAPMADNNEGADGVGNSSGNWCHDSQWLGR	238
	* : . : ...* . :...:*****,:*:***** * .:	

AAV1	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	297
AAV2	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQ-S-GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
AAV3	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQ-S-GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
AAV3-3	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQ-S-GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
AAV3B	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQ-S-GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
AAV4	VTTTSTRTWVLPPTYNNHLYKRLGE----SLQSNYNGFSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	287
AAV4-4	VTTTSTRTWVLPPTYNNHLYKRLGE----SLQSNYNGFSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	287
AAV5	VVTKSTRTWVLPSPYNNHQYREIKSGSVD-GSNANAYFGYSTPWGYFDENRFHSHWSPRDW	287
AAV6	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSAST-GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	297
AAV7	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSETA-GSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	298
AAV8	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	299
AAV9	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	298
AAV9e	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	298
rh.10	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	299
rh.20	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	299
rh.39	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	299
rh.73	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	299
rh.74v1	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	299
rh.74v2	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	299
hu.12	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
hu.21	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
hu.26	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
hu.37	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISNGTSGGSTNDNTYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	299
hu.51	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
hu.53	VITTSTRTWALPTYNNHLYKQISSQS--GASNDNHYFGYSTPWGYFDENRFHCHFSPRDW	296
	* *,*****,:*:***** *.: : * * *:*****,:*****	

图3(续)

AAV1	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDEYQLPYVLGS	357
AAV2	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	356
AAV3	QRLINNNWGFRPKKLSFKLFNIQVRGVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	356
AAV3-3	QRLINNNWGFRPKKLSFKLFNIQVRGVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	356
AAV3B	QRLINNNWGFRPKKLSFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	356
AAV4	QRLINNNWGMRPKAMRVKIFNIQVKEVTTSNGETTVANNLTSTVQIFADSSYELPYVMDA	347
AAV4-4	QRLINNNWGMRPKAMRVKIFNIQVKEVTTSNGETTVANNLTSTVQIFADSSYELPYVMDA	347
AAV5	QRLINNNWGFRPKSLRVKIFNIQVKEVTQDSTTTIANNLTSTVQVFTDDSYQLPYVVG	347
AAV6	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTNDGVTTIANNLTSTVQVFSDEYQLPYVLGS	357
AAV7	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTNDGVTTIANNLTSTIQVFSDEYQLPYVLGS	358
AAV8	QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS	359
AAV9	QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTVQVFTDSDYQLPYVLGS	358
AAV9e	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTVQVFTDSDYQLPYVLGS	358
rh.10	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS	359
rh.20	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS	359
rh.39	QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS	359
rh.73	QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS	359
rh.74v1	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS	359
rh.74v2	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS	359
hu.12	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	359
hu.21	QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	356
hu.26	QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	356
hu.37	QRLINNNWGFRPKRLSFKLFNIQVKEVTQNEGKTIANNTSTIQVFTDSEYQLPYVLGS	359
hu.51	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	356
hu.53	QRLINNNWGFRPKRLNFKLFNIQVKEVTQNDGTTTIANNLTSTVQVFTDSEYQLPYVLGS	356
	***** **:* : .*:*****: ** .. *:*****:***:..*:*****:..	
AAV1	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY	414
AAV2	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY	413
AAV3	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY	413
AAV3-3	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY	413
AAV3B	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY	413
AAV4	GQEGSLPPFPNDVFMVPQYGYCGLVTGNTSQQQTDRNAFYCLEYFPSQMLRTGNNFEITY	407
AAV4-4	GQEGSLPPFPNDVFMVPQYGYCGLVTGNTSQQQTDRNAFYCLEYFPSQMLRTGNNFEITY	407
AAV5	GTEGCLPAFPFPQVFTLPQYGYATLNRDNT-ENPTERSSFFCLEYFPSKMLRTGNNFEITY	406
AAV6	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY	414
AAV7	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQSVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY	415
AAV8	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFTY	416
AAV9	AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY	415
AAV9e	AHEGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNDG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY	415
rh.10	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY	416
rh.20	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY	416
rh.39	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY	416
rh.73	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY	416
rh.74v1	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY	416
rh.74v2	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY	416
hu.12	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRPSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY	413
hu.21	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY	413
hu.26	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY	413
hu.37	AHQGCLPPFPADVFMIPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFEFSY	416
hu.51	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFTFSY	413
hu.53	AHQGCLPPFPADVFMVPQYGYLTLNNG---SQAVGRSSFYCLEYFPSQMLRTGNNFQFSY	413
	. :*,** **:* :***** * . .: .*:*****:*****: :*	

图3(续)

AAV1	TFEEVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLNRTQ	QSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV	473
AAV2	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTN	TPSGTTTQSRLLFSQAGASDIRD	472
AAV3	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLNRTQ	GTTSGTTNQSRLLFSQAGPQMSL	473
AAV3-3	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLNRTQ	GTTSGTTNQSRLLFSQAGPQMSL	473
AAV3B	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLNRTQ	GTTSGTTNQSRLLFSQAGPQMSL	473
AAV4	SFEKVPFHSSMYAHSQSLDRLMNP	LDQYLWGLQST	TTGTTLNAGTATTNFTKLRPNTFSN	467
AAV4-4	SFEKVPFHSSMYAHSQSLDRLMNP	LDQYLWGLQST	TTGTTLNAGTATTNFTKLRPNTFSN	467
AAV5	NFEEVPPFHSSFAPSQNLFLKANP	LDQYLYRFVST	NTG-----GVQFNKNLAGRYAN	459
AAV6	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLNRTQ	QSGSAQNKDLLFSRGSPAGMSV	473
AAV7	SFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLARTQ	SNPGGTAGNRELQFYQGGPSTMAE	475
AAV8	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTQ	TGTTANTQTLGFSQGGPNTMAN	475
AAV9	EFENVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSKTINGS	--GQNOQTLKFSVAGPSNMAV	473
AAV9e	EFENVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSKTINGS	--GQNOQTLKFSVAGPSNMAV	473
rh.10	QFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTQ	S-TGGTAGTQQLLFSQAGPNMSA	475
rh.20	QFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTQ	S-TGGTAGTQQLLFSQAGPNMSA	475
rh.39	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTQ	S-TGGTQGTQQLLFSQAGPNMSA	475
rh.73	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTQ	S-TGGTAGTQQLLFSQAGPNMSA	475
rh.74v1	NFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTQ	S-TGGTAGTQQLLFSQAGPNMSA	475
rh.74v2	NFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTQ	S-TGGTAGTQQLLFSQAGPNMSA	475
hu.12	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLNRTQ	S-NSGTLQQLSRLLFSQAGPTSM	472
hu.21	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTN	TPSGTTTMSRLLFSQAGASDIRD	472
hu.26	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTN	TPSGTTTMSRLLFSQAGASDIRD	472
hu.37	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSRTQ	S-TGGTQGTQQLLFSQAGPNMSA	475
hu.51	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLSTTN	TPSGTTTQSRLLFSQAGASDIRD	472
hu.53	TFEDVPPFHSSYAHSQSLDRLMNP	LDQYLYLNRTQ	TAGGTQ-QSRLLFSQAGPTSM	471
	**.*.*.*.*	:*.*.*	:*.*.*.*.*	:*

AAV1	QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTD	NNNSNF----	TWTGASKYNLNGRESI	INPGTAMASHK	528
AAV2	QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSAD	NNNSEY----	SWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	527
AAV3	QARNWLPGPCYRQQRVSKTAND	NNNSNF----	PWTAASKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	528
AAV3-3	QARNWLPGPCYRQQRVSKTAND	NNNSNF----	PWTAASKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	528
AAV3B	QARNWLPGPCYRQQRVSKTAND	NNNSNF----	PWTAASKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	528
AAV4	FKKNWLPGPSIKQGGFSKTANQ	NYKIPATGSDSLIKYETH	STLDGRWSALT	PGPPMATAG	527
AAV4-4	FKKNWLPGPSIKQGGFSKTANQ	NYKIPATGSDSLIKYETH	STLDGRWSALT	PGPPMATAG	527
AAV5	TYKNWFPGPMPGRTQGWNLGS	GVNRASVS----	AFATTNRMELEGASY	QVPPQPGMTNN	514
AAV6	QPKNWLPGPCYRQQRVSKTKTD	NNNSNF----	TWTGASKYNLNGRESI	INPGTAMASHK	528
AAV7	QAKNWLPGPCFRQQRVSKTLDQ	NNNSNF----	AWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGVAMATHK	530
AAV8	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTTGQ	NNNSNF----	AWTAGTKYHLNGRDS	SLANPGIAMATHK	530
AAV9	QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQ	NNNSEF----	AWPGASSWALNGRDS	SLMNPGPAMASHK	528
AAV9e	QGRNYIPGPSYRQQRVSTTVTQ	NNNSEF----	AWPGASSWALNGRDS	SLMNPGPAMASHK	528
rh.10	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTLSQ	NNNSNF----	AWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGVAMATHK	530
rh.20	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTLSQ	NNNSNF----	AWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGVAMATHK	530
rh.39	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTLSQ	NNNSNF----	AWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGVAMATHK	530
rh.73	QARNWLPGPCYRQQRVSTTLSQ	NNNSNF----	AWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGVAMATNK	530
rh.74v1	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTLSQ	NNNSNF----	AWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGVAMATHK	530
rh.74v2	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTLSQ	NNNSNF----	AWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGVAMATHK	530
hu.12	QAKNWLPGPCYRQQRVSKQAND	NNNSNF----	PWTAATKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	527
hu.21	QSRNWLPGPCYRQQRVSKTAAD	NNNSDY----	SWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	527
hu.26	QSRNWLPGPCYRQQRVSKTAAD	NNNSDY----	SWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	527
hu.37	QAKNWLPGPCYRQQRVSTTLSQ	NNNSNF----	AWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGVAMATHK	530
hu.51	QSRNWLPGPCYRQQRVSKTSAD	NNNSEY----	SWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	527
hu.53	QAKNWLPGPCYRQQRVSKQAND	NNNSNF----	PWTGATKYHLNGRDS	SLVNPGPAMASHK	526
	:*.*.*.*	:*.*.*	:*.*.*.*	:*	

图3(续)

AAV1	DDEKFFPMSGVMI FGKESAGA---SNTALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVN	585
AAV2	DDEEKFFPQSGVLI FGKQGSSEK---TNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNL	584
AAV3	DDEEKFFPMHGNLI FGKEGTTA---SNAELDNVMITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANNL	585
AAV3-3	DDEEKFFPMHGNLI FGKEGTTA---SNAELDNVMITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANNL	585
AAV3B	DDEEKFFPMHGNLI FGKEGTTA---SNAELDNVMITDEEEIRTTNPVATEQYGTVANNL	585
AAV4	PADSKFSN-SQLIFAGPKQNGN---TATVPGLTIFTSEELAATNATDMDWGNLPGGD	583
AAV4-4	PADSKFSN-SQLIFAGPKQNGN---TATVPGLTIFTSEELAATNATDMDWGNLPGGD	583
AAV5	LQGSNTYALENTMIFNSQPANPGTTATYLEGNMLITSEETQPVNRVAYNVGGQMATNN	574
AAV6	DDKDKFFPMSGVMI FGKESAGA---SNTALDNVMITDEEEIKATNPVATERFGTVAVN	585
AAV7	DDEDFFFPSSGVLI FGKGTGATN---KTTLENVMLTNEEEIRPTNPVATEEYGVVADNL	586
AAV8	DDEERFFPSNGILI FGKQNAAR---DNADYSVMLTSEEEIKTTNPVATEEYGVVADNL	587
AAV9	EGEDRFFPLSGSLI FGKQGTGR---DNVDADKVMITNEEEIKTTNPVATESYGVVATNH	585
AAV9e	EGEDRFFPLSGSLI FGKQGTGR---DNVDADKVMITNEEEIKTTNPVATESYGVVATNH	585
rh.10	DDEERFFPSSGVLMFGKQAGK---DNVDYSVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	587
rh.20	DDEERFFPSSGVLMFGKQAGK---DNVDYSVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	587
rh.39	DDEERFFPSSGVLMFGKQAGK---DNVDYSVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	587
rh.73	DDEDFFFPSSGILMFGKQAGK---DNVDYSVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	587
rh.74v1	DDEERFFPSSGVLMFGKQAGK---DNVDYSVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	587
rh.74v2	DDEERFFPSSGVLMFGKQAGK---DNVDYSVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	587
hu.12	DDEEKFFPMHGTLI FGKQGTNA---NDADLEHVMITDEEEIRTTNPVATEQYGNVSNNL	584
hu.21	DDEEKYFPQSGVLI FGKQDSGK---TNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNL	584
hu.26	DDEEKYFPQSGVLI FGKQDSGK---TNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNL	584
hu.37	DDEERFFPSSGVLMFGKQAGK---DNVDYSVMLTSEEEIKTTNPVATEQYGVVADNL	587
hu.51	DNEEKFFPQSGVLI FGKQGSSEK---TNVDIEKVMITDEEEIRTTNPVATEQYGSVSTNL	584
hu.53	DDEEKFFPMHGTLI FGKEGTTA---TNAELNVMITDEEEIRTTNPVATEQYGVVSNNL	583
..	:: . : : * . * . * . : * : . *	
AAV1	SSS#TDPATGDVHAMGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKN-PPP	645
AAV2	RGN#RQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	644
AAV3	SSN#TAPTTGTVNHQGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	645
AAV3-3	SSN#TAPTTGTVNHQGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	645
AAV3B	SSN#TAPTTGTVNDQGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	645
AAV4	SNS#NLPTVDRLTALGAVPGMVWQNRDIYQGPWAKIPHTDGHFHPSPLIIGGFGLKH-PPP	643
AAV4-4	SNS#NLPTVDRLTALGAVPGMVWQNRDIYQGPWAKIPHTDGHFHPSPLIIGGFGLKH-PPP	643
AAV5	SST#TAPATGTYNLQEIIVPGSVWMERDVYLQGPWAKIPETGAHFHPSPAMGGFGLKH-PPP	634
AAV6	SSS#TDPATGDVHVMGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	645
AAV7	AAN#TAAQTQVNNQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	646
AAV8	QQN#TAPQIGTVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	647
AAV9	SAQ#AQATGWVQNGILPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	645
AAV9e	SDG#AQATGWVQNGILPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	645
AAVrh10	QQN#AAPIVGAVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	647
AAVrh20	QQN#AAPIVGAVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	647
rh.39	QTN#TGPIVGNVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	647
rh.73	RQN#TAPIVGAVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	647
rh.74v1	QQN#AAPIVGAVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	647
rh.74v2	QQN#AAPIVGAVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	647
hu.12	NSN#TGPTTENVNHQGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	644
hu.21	SGN#TQAATSDVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	644
hu.26	SGN#TQAATSDVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	644
hu.37	QTN#TGPIVGNVNSQGALPGMVWQNRDVYLQGPWAKIPHTDGNFHPSPLMGGFGLKH-PPP	647
hu.51	RGN#RQAATADVNTQGVLPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	645
hu.53	NSN#TAASTETVNHQGALPGMVWQDRDVYLQGPWAKIPHTDGHFHPSPLMGGFGLKH-PPP	644
	: * * * : * : * * * * * . * . : * * * : * * * : * * *	

图3(续)

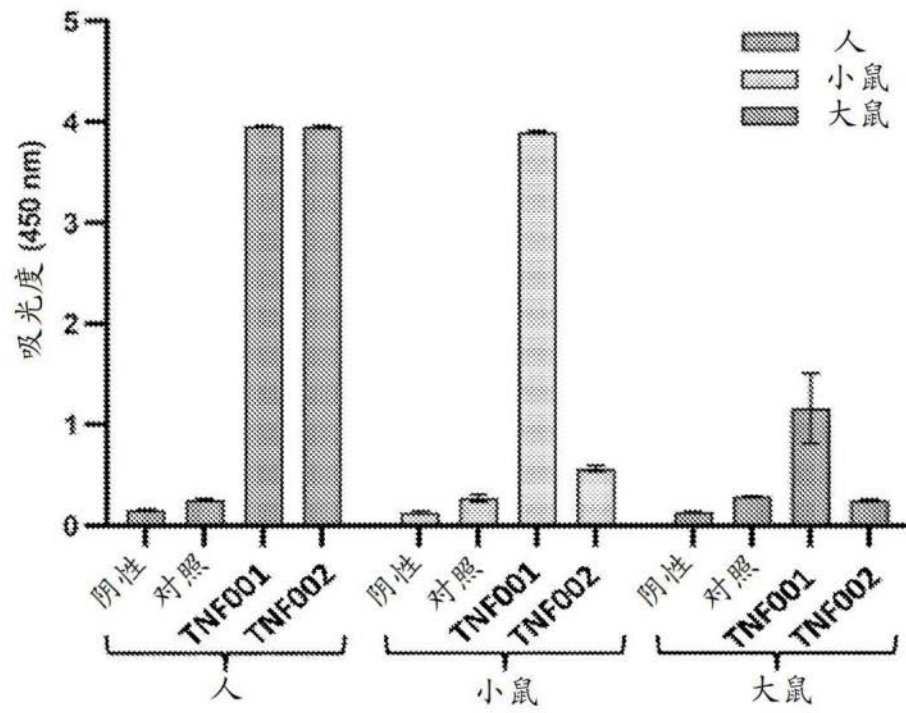
AAV1	QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	705
AAV2	QILIKNTPVPANPSTTFSAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	704
AAV3	QIMIKNTPVPANPPTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	705
AAV3-3	QIMIKNTPVPANPPTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	705
AAV3B	QIMIKNTPVPANPPTTFSPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	705
AAV4	QIFIKNTPVPANPATTFSTPVNSFITQYSTGQVSVQIDWEIQKERS KRWNPEVQFTSNY	703
AAV4-4	QIFIKNTPVPANPATTFSTPVNSFITQYSTGQVSVQIDWEIQKERS KRWNPEVQFTSNY	703
AAV5	MMLIKNTPVPGNI-TSFSQVPSVSSFITQYSTGQVTMEMEWELKKENS KRWNPEIQYTSNY	693
AAV6	QILIKNTPVPANPPAEFSATKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEVQYTSNY	705
AAV7	QILIKNTPVPANPPEVFTPAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	706
AAV8	QILIKNTPVPADPPTTFNQSKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	707
AAV9	QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	705
AAV9e	QILIKNTPVPADPPTAFNKDKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	705
rh.10	QILIKNTPVPADPPTTFQAKLASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	707
rh.20	QILIKNTPVPADPPTTFQAKLASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	707
rh.39	QILIKNTPVPADPPTTFQAKLASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	707
rh.73	QILIKNTPVPADPPTAFNQAKLNSFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	707
rh.74v1	QILIKNTPVPADPPTTFQAKLASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	707
rh.74v2	QILIKNTPVPADPPTTFNQAKLASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	707
hu.12	QIMIKNTPVPANPPTNFSSAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	704
rh.21	QILIKNTPVPANPSTTFSAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	704
hu.26	QILIKNTPVPANPSTTFSAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	704
hu.37	QILIKNTPVPADPPTTFQAKLASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	707
hu.51	QILIKNTPVPANPSTTFSAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	705
hu.53	QIMIKNTPVPANPPTNFSSAKFASFITQYSTGQVSVEIEWELQKENS KRWNPEIQYTSNY	704
::*****: . . *****:***:***:*.*****:*.**:.		
AAV1	AKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL	736 (SEQ ID NO:22)
AAV2	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	735 (SEQ ID NO:23)
AAV3	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	736 (SEQ ID NO:24)
AAV3-3	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	736 (SEQ ID NO:25)
AAV3B	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	736 (SEQ ID NO:26)
AAV4	GQQNSLLWAPDAAGKYTEPRAIGTRYLTHHL	734 (SEQ ID NO:27)
AAV4-4	GQQNSLLWAPDAAGKYTEPRAIGTRYLTHHL	734 (SEQ ID NO:28)
AAV5	NDPQFVDFAPDSTGEYRTRPIGTRYLTRPL	724 (SEQ ID NO:29)
AAV6	AKSANVDFTVDNNGLYTEPRPIGTRYLTRPL	736 (SEQ ID NO:30)
AAV7	EKQTVDFVDFVDSQGVYSEPRPIGTRYLTRNL	737 (SEQ ID NO:31)
AAV8	YKSTSVDFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL	738 (SEQ ID NO:32)
AAV9	YKSNVDFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL	736 (SEQ ID NO:33)
AAV9e	YKSNVDFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL	736 (SEQ ID NO:34)
rh.10	YKSTNVDFAVNTDGTYSERPIGTRYLTRNL	738 (SEQ ID NO:35)
rh.20	YKSTNVDFAVNTEGTYSERPIGTRYLTRNL	738 (SEQ ID NO:36)
rh.39	YKSTNVDFAVNTEGTYSERPIGTRYLTRNL	738 (SEQ ID NO:37)
rh.73	YKSTNVDFAVNTEGVYSEPRPIGTRYLTRNL	739 (SEQ ID NO:38)
rh.74v1	YKSTNVDFAVNTEGTYSERPIGTRYLTRNL	738 (SEQ ID NO:39)
rh.74v2	YKSTNVDFAVNTEGTYSERPIGTRYLTRNL	738 (SEQ ID NO:40)
hu.12	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	735 (SEQ ID NO:41)
hu.21	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	735 (SEQ ID NO:42)
hu.26	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	735 (SEQ ID NO:43)
hu.37	YKSTNVDFAVNTEGTYSERPIGTRYLTRNL	738 (SEQ ID NO:44)
hu.51	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	736 (SEQ ID NO:45)
hu.53	NKSVNVDFTVDTNGVYSEPRPIGTRYLTRNL	737 (SEQ ID NO:46)
. : : * * * *****: *		

图3(续)

IgG1	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK	274
IgG2	E--RKCCVECPPCAPPV-AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ	274
IgG4	E--SKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ	274
	* : ** **** . .*****;*****;	
IgG1	FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK	334
IgG2	FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEK	334
IgG4	FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEK	334
	*****;***;*****;*****.***; **	
IgG1	TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT	394
IgG2	TISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYKTT	394
IgG4	TISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT	394
	****;*****;*:*****;*****	
IgG1	PPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	447 (SEQ ID NO:47)
IgG2	PPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	447 (SEQ ID NO:48)
IgG4	PPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK	447 (SEQ ID NO:49)
	;***;*****;*****;*****;*	

图4

A.



B.

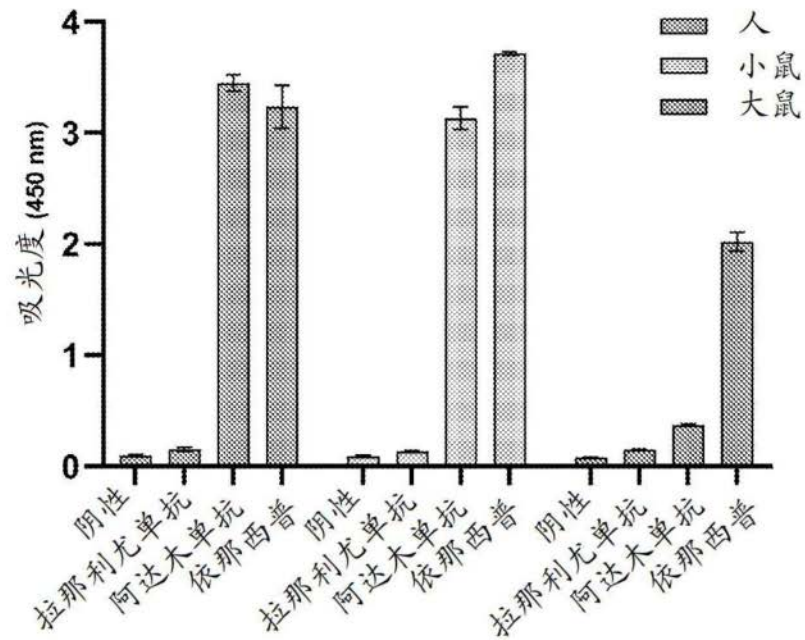


图5A和图5B