



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115461086 A

(43) 申请公布日 2022. 12. 09

(21) 申请号 202180026758.0

林云娜

(22) 申请日 2021.02.06

(74) 专利代理机构 上海胜康律师事务所 31263

专利代理师 樊英如 张静

(30) 优先权数据

62/971,771 2020.02.07 US

62/989,487 2020.03.13 US

63/047,147 2020.07.01 US

(51) Int.Cl.

A61K 48/00 (2006.01)

A61K 31/7088 (2006.01)

A61K 9/107 (2006.01)

A61K 31/4164 (2006.01)

A61K 31/455 (2006.01)

A61K 47/10 (2006.01)

A61K 47/18 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 21/00 (2006.01)

C12N 15/113 (2006.01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.09.30

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/IB2021/050975 2021.02.06

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/156832 EN 2021.08.12

(71) 申请人 生物欧赛加有限责任公司

地址 韩国大田广域市

权利要求书7页 说明书59页

序列表117页 附图20页

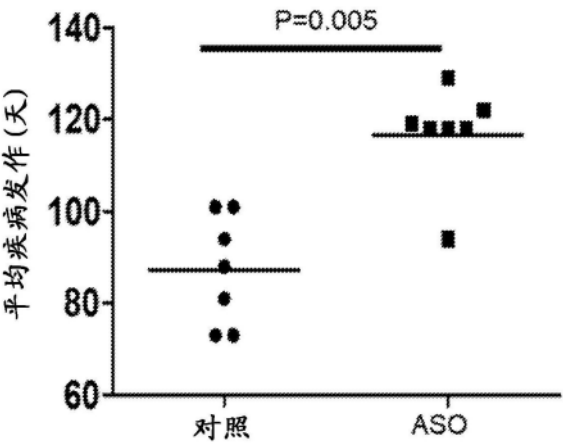
(72) 发明人 柳金孝 赫韩硕 金大勋 闵贤洙

(54) 发明名称

miRNA-485抑制剂用于治疗肌萎缩性侧索硬化症(als)的用途

(57) 摘要

本公开包括miRNA抑制剂用于治疗与SIRT1蛋白或SIRT1基因表达、PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因表达、CD36蛋白和/或CD36基因表达、NRG1蛋白和/或NRG1基因表达、STMN2蛋白和/或STMN2基因表达、和/或NRXN1蛋白和/或NRXN1基因表达的水平降低相关的肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的用途。



1. 一种治疗有需要的受试者的肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 的方法, 所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物 (miRNA抑制剂)。

2. 如权利要求1所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂增加所述受试者中SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平。

3. 如权利要求1或2所述的方法, 其中所述受试者患有与SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平降低相关的ALS。

4. 如权利要求1或2所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂诱导自噬和/或治疗或预防炎症。

5. 如权利要求1至4中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂增加所述受试者中CD36蛋白和/或CD36基因的水平。

6. 如权利要求1至5中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有与CD36蛋白和/或CD36基因的水平降低相关的ALS。

7. 如权利要求1至6中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂增加所述受试者中PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的水平。

8. 如权利要求1至7中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有与PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的水平降低相关的ALS。

9. 如权利要求1至8中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂增加所述受试者中NRG1蛋白和/或NRG1基因的水平。

10. 如权利要求1至9中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有与NRG1蛋白和/或NRG1基因的水平降低相关的ALS。

11. 如权利要求1至8中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂增加所述受试者中STMN2蛋白和/或STMN2基因的水平。

12. 如权利要求1至9中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有与STMN2蛋白和/或STMN2基因的水平降低相关的ALS。

13. 如权利要求1至10中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂增加所述受试者中NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的水平。

14. 如权利要求1至9中任一项所述的方法, 其中所述受试者患有与NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的水平降低相关的ALS。

15. 如权利要求1至14中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂诱导神经发生。

16. 如权利要求15所述的方法, 其中诱导神经发生包括神经干细胞和/或祖细胞的增殖、分化、迁移和/或存活增加。

17. 如权利要求15或16所述的方法, 其中诱导神经发生包括神经干细胞和/或祖细胞的数量增加。

18. 如权利要求15至17中任一项所述的方法, 其中诱导神经发生包括轴突、树突和/或突触发育增加。

19. 如权利要求1至18中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂诱导吞噬作用。

20. 一种治疗有需要的受试者中与异常SIRT1蛋白和/或SIRT1基因水平相关的肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 的方法, 所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物 (miRNA抑制剂), 其中所述miRNA抑制剂增加所述SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平。

21. 一种治疗有需要的受试者中与异常CD36蛋白和/或CD36基因水平相关的肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂),其中所述miRNA抑制剂增加所述CD36蛋白和/或CD36基因的水平。

22. 一种治疗有需要的受试者中与异常PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因水平相关的肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂),其中所述miRNA抑制剂增加所述PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的水平。

23. 一种治疗有需要的受试者中与异常NRG1蛋白和/或NRG1基因水平相关的肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂),其中所述miRNA抑制剂增加所述NRG1蛋白和/或NRG1基因的水平。

24. 一种治疗有需要的受试者中与异常STMN2蛋白和/或STMN2基因水平相关的肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂),其中所述miRNA抑制剂增加所述STMN2蛋白和/或STMN2基因的水平。

25. 一种治疗有需要的受试者中与异常NRXN1蛋白和/或NRXN1基因水平相关的肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂),其中所述miRNA抑制剂增加所述NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的水平。

26. 如权利要求1至25中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂抑制miR485-3p。

27. 如权利要求26所述的方法,其中所述miR485-3p包含5'-gucauacacggcucuccucucu-3'(SEQ ID NO:1)。

28. 如权利要求1至26中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列,所述核苷酸序列包含5'-UGUAUGA-3'(SEQ ID NO:2),并且其中所述miRNA抑制剂包含约6至约30个核苷酸的长度。

29. 如权利要求1至28中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂增加SIRT1、PGC-1 α 、CD36、NRG1、STMN2和/或NRXN1基因的转录和/或SIRT1、PGC-1 α 、CD36、NRG1、STMN2和/或NRXN1蛋白的表达。

30. 如权利要求1至29中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂在所述核苷酸序列的5'包含至少1个核苷酸、至少2个核苷酸、至少3个核苷酸、至少4个核苷酸、至少5个核苷酸、至少6个核苷酸、至少7个核苷酸、至少8个核苷酸、至少9个核苷酸、至少10个核苷酸、至少11个核苷酸、至少12个核苷酸、至少13个核苷酸、至少14个核苷酸、至少15个核苷酸、至少16个核苷酸、至少17个核苷酸、至少18个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸。

31. 如权利要求1至30中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂在所述核苷酸序列的3'包含至少1个核苷酸、至少2个核苷酸、至少3个核苷酸、至少4个核苷酸、至少5个核苷酸、至少6个核苷酸、至少7个核苷酸、至少8个核苷酸、至少9个核苷酸、至少10个核苷酸、至少11个核苷酸、至少12个核苷酸、至少13个核苷酸、至少14个核苷酸、至少15个核苷酸、至少16个核苷酸、至少17个核苷酸、至少18个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸。

32. 如权利要求1至26和29至31中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂具有选自以下组成的组的序列:5'-UGUAUGA-3'(SEQ ID NO:2)、5'-GUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:3)、5'-CGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:4)、5'-CCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:5)、5'-GCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:6)、5'-AGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:7)、5'-GAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:8)、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:9)、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:10)、5'-

GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO:11)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO:12)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO:13)、5'-AGA GGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO:14)、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3' (SEQ ID NO:15)、5'-UGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:16)、5'-GUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:17)、5'-CGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:18)、5'-CCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:19)、5'-GCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:20)、5'-AGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:21)、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:22)、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:23)、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:24)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:25)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:26)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:27)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:28)、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:29)和5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:30)。

33.如权利要求1至26和29至31中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂具有选自由以下组成的组的序列:5'-TGTATGA-3' (SEQ ID NO:62)、5'-GTGTATGA-3' (SEQ ID NO:63)、5'-CGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:64)、5'-CCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:65)、5'-GCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:66)、5'-AGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:67)、5'-GAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:68)、5'-AGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:69)、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:70)、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:71)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:72)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:73)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:74)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3' (SEQ ID NO:75)、5'-TGTATGAC-3' (SEQ ID NO:76)、5'-GTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:77)、5'-CGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:78)、5'-CCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:79)、5'-GCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:80)、5'-AGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:81)、5'-GAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:82)、5'-AGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:83)、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:84)、5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:85)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:86)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:87)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:88)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:89)和5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:90)。

34.如权利要求1至31中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂的序列与5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:90)具有至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%序列同一性。

35.如权利要求34所述的方法,其中所述miRNA抑制剂具有与5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:90)具有至少90%相似性的序列。

36.如权利要求1至34中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:90),具有一个取代或两个取代。

37.如权利要求1至34中任一项所述的方法,其中所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3' (SEQ ID NO:90)。

38. 如权利要求37所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (SEQ ID NO: 30)。

39. 如权利要求1至38中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂包含至少一种经修饰的核苷酸。

40. 如权利要求39所述的方法, 其中所述至少一种经修饰的核苷酸是锁核酸(LNA)、解锁核酸(UNA)、阿拉伯核酸(ABA)、桥联核酸(BNA)和/或肽核酸(PNA)。

41. 如权利要求1至40中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂包含主链修饰。

42. 如权利要求41所述的方法, 其中所述主链修饰是二氨基磷酸酯吗啉代低聚物(PMO)和/或硫代磷酸酯(PS)修饰。

43. 如权利要求1至42中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂在递送剂中递送。

44. 如权利要求43所述的方法, 其中所述递送剂是胶束、外泌体、脂质纳米颗粒、细胞外囊泡或合成囊泡。

45. 如权利要求1至44中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂通过病毒载体递送。

46. 如权利要求45所述的方法, 其中所述病毒载体是AAV、腺病毒、逆转录病毒或慢病毒。

47. 如权利要求46所述的方法, 其中所述病毒载体是具有血清型AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或它们的任何组合的AAV。

48. 如权利要求1至47中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂用递送剂递送。

49. 如权利要求48所述的方法, 其中所述递送剂包括类脂质、脂质体、脂质复合物、脂质纳米颗粒、聚合化合物、肽、蛋白质、细胞、纳米颗粒模拟物、纳米管或缀合物。

50. 如权利要求48或49所述的方法, 其中所述递送剂包含阳离子载体单元, 所述阳离子载体单元包含

[WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (式I)

或

[WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (式II)

其中

WP是水溶性生物聚合物部分;

CC是带正电荷的载体部分;

AM是佐剂部分; 并且,

L1和L2独立地是任选的接头, 并且

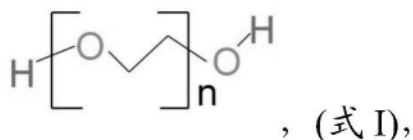
其中当以约1:1的离子比率与核酸混合时, 所述阳离子载体单元形成胶束。

51. 如权利要求50所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂通过离子键与所述阳离子载体单元相互作用。

52. 如权利要求50或51所述的方法, 其中所述水溶性聚合物包括聚(烷二醇)、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯二醇)、聚(乙烯基吡咯烷酮)、聚(羟烷基甲基丙烯酰胺)、聚(甲基丙烯酸羟烷基酯)、聚(糖类)、聚(α -羟基酸)、聚(乙醇醇)、聚甘油、聚磷脂、聚噁唑啉("POZ")聚(N-丙烯酰吗啉)或它们的任何组合。

53. 如权利要求50至52所述的方法, 其中所述水溶性聚合物包括聚乙二醇("PEG")、聚甘油或聚(丙二醇)("PPG")。

54. 如权利要求50至53中任一项所述的方法,其中所述水溶性聚合物包含:



其中n是1-1000。

55. 如权利要求54所述的方法,其中所述n是至少约110、至少约111、至少约112、至少约113、至少约114、至少约115、至少约116、至少约117、至少约118、至少约119、至少约120、至少约121、至少约122、至少约123、至少约124、至少约125、至少约126、至少约127、至少约128、至少约129、至少约130、至少约131、至少约132、至少约133、至少约134、至少约135、至少约136、至少约137、至少约138、至少约139、至少约140或至少约141。

56. 如权利要求54所述的方法,其中所述n是约80至约90、约90至约100、约100至约110、约110至约120、约120至约130、约140至约150、约150至约160。

57. 如权利要求50至56中任一项所述的方法,其中所述水溶性聚合物是直链的、支链的或树枝状的。

58. 如权利要求50至57中任一项所述的方法,其中所述阳离子载体部分包含一个或多个碱性氨基酸。

59. 如权利要求58所述的方法,其中所述阳离子载体部分包含至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个、至少31个、至少32个、至少33个、至少34个、至少35个、至少36个、至少37个、至少38个、至少39个、至少40个、至少41个、至少42个、至少43个、至少44个、至少45个、至少46个、至少47个、至少48个、至少49个或至少50个碱性氨基酸。

60. 如权利要求59所述的方法,其中所述阳离子载体部分包含约30至约50个碱性氨基酸。

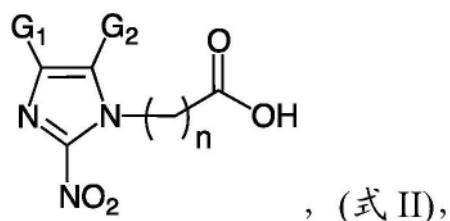
61. 如权利要求59或60所述的方法,其中所述碱性氨基酸包括精氨酸、赖氨酸、组氨酸或它们的任何组合。

62. 如权利要求50至61中任一项所述的方法,其中所述阳离子载体部分包含约40个赖氨酸单体。

63. 如权利要求50至62中任一项所述的方法,其中所述佐剂部分能够调节免疫应答、炎症应答和/或组织微环境。

64. 如权利要求50至63中任一项所述的方法,其中所述佐剂部分包含咪唑衍生物、氨基酸、维生素或它们的任何组合。

65. 如权利要求64所述的方法,其中所述佐剂部分包含:



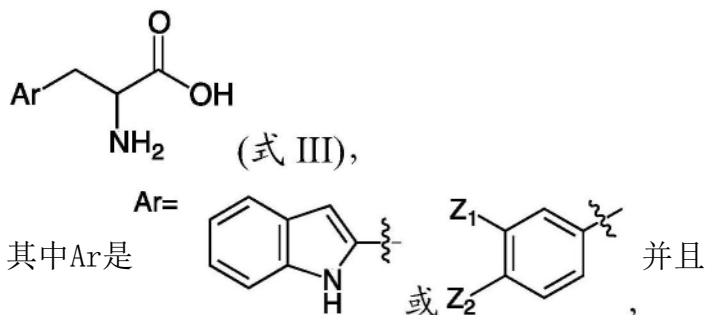
其中G1和G2各自是H、芳族环或1-10烷基,或者G1和G2一起形成芳族环,并且其中n是1-10。

66. 如权利要求64所述的方法,其中所述佐剂部分包含硝基咪唑。

67. 如权利要求64所述的方法,其中所述佐剂部分包含甲硝唑、替硝唑、尼莫唑、地美硝唑、普瑞玛尼、奥硝唑、美格唑、阿扎硝唑、苜硝唑或它们的任何组合。

68. 如权利要求50至64中任一项所述的方法,其中所述佐剂部分包含氨基酸。

69. 如权利要求68所述的方法,其中所述佐剂部分包含

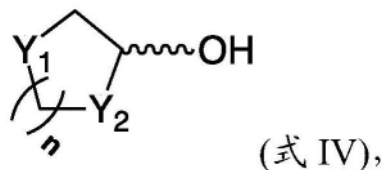


其中Z1和Z2各自是H或OH。

70. 如权利要求50至63中任一项所述的方法,其中所述佐剂部分包含维生素。

71. 如权利要求70所述的方法,其中所述维生素包含环状环或环状杂原子环和羧基或羟基。

72. 如权利要求70或71所述的方法,其中所述维生素包含:



其中Y1和Y2各自是C、N、O或S,并且其中n是1或2。

73. 如权利要求70至72中任一项所述的方法,其中所述维生素选自由以下组成的组:维生素A、维生素B1、维生素B2、维生素B3、维生素B6、维生素B7、维生素B9、维生素B12、维生素C、维生素D2、维生素D3、维生素E、维生素M、维生素H以及它们的任何组合。

74. 如权利要求70至73中任一项所述的方法,其中所述维生素是维生素B3。

75. 如权利要求70至74中任一项所述的方法,其中所述佐剂部分包含至少约两个、至少约三个、至少约四个、至少约五个、至少约六个、至少约七个、至少约八个、至少约九个、至少约十个、至少约11个、至少约12个、至少约13个、至少约14个、至少约15个、至少约16个、至少约17个、至少约18个、至少约19个或至少约20个维生素B3。

76. 如权利要求63所述的方法,其中所述佐剂部分包含约10个维生素B3。

77. 如权利要求70至76中任一项所述的方法,其中所述递送剂约包含具有约120至约130个PEG单元的水溶性生物聚合物部分、包含具有约30至约40个赖氨酸的聚赖氨酸的阳离子载体部分和具有约5至约10个维生素B3的佐剂部分。

78. 如权利要求70至77中任一项所述的方法,其中所述递送剂与所述miRNA抑制剂缔合,从而形成胶束。

79. 如权利要求78所述的方法,其中所述缔合是共价键、非共价键或离子键。

80. 如权利要求78或79所述的方法, 其中所述胶束中的所述阳离子载体单元和所述miRNA抑制剂在溶液中混合, 使得所述阳离子载体单元的正电荷与所述miRNA抑制剂的负电荷的离子比率是约1:1。

81. 如权利要求78至80中任一项所述的方法, 其中所述阳离子载体单元能够保护所述miRNA抑制剂免于酶促降解。

82. 如权利要求1至81中任一项所述的方法, 其中所述ALS包括散发性ALS、家族性ALS或两者。

83. 如权利要求1至82中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂延迟ALS发作。

84. 如权利要求1至83中任一项所述的方法, 其中所述miRNA抑制剂提高所述受试者的肌肉强度。

85. 如权利要求48所述的方法, 其中所述递送剂是胶束。

86. 如权利要求85所述的方法, 其中所述胶束包含 (i) 约100至约200个PEG单元; (ii) 约30至约40个赖氨酸, 各自具有胺基团; (iii) 约15至约20个赖氨酸, 各自具有硫醇基团; 以及 (iv) 约30至约40个赖氨酸, 各自连接至维生素B3。

87. 如权利要求85所述的方法, 其中所述胶束包含 (i) 约120至约130个PEG单元; (ii) 约32个赖氨酸, 各自具有胺基团; (iii) 约16个赖氨酸, 各自具有硫醇基团; 以及 (iv) 约32个赖氨酸, 各自连接至维生素B3。

88. 如权利要求86或87所述的方法, 其中靶向部分进一步连接至所述PEG单元。

89. 如权利要求88所述的方法, 其中所述靶向部分是LAT 1靶向配体。

90. 如权利要求89所述的方法, 其中所述靶向部分是苯丙氨酸。

miRNA-485抑制剂用于治疗肌萎缩性侧索硬化症(als)的用途

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本PCT申请要求2020年2月7日提出申请的美国临时申请号62/971,771;2020年3月13日提出申请的美国临时申请号62/989,487;和2020年7月1日提出申请的美国临时申请号63/047,147的优先权权益,所述临时申请各自以引用的方式整体并入本文。

[0003] 对经由EFS-WEB以电子方式提交的序列表的引用

[0004] 与本申请一起提交的以ASCII文本文件(名称:4366_021PC03_Seqlisting_ST25.txt;大小:264,015字节;和创建日期:2021年2月5日)以电子方式提交的序列表的内容以引用的方式整体并入本文。

技术领域

[0005] 本公开提供了miR-485抑制剂(例如,编码包含至少一个miR-485结合位点的核苷酸分子的多核苷酸)用于治疗肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的用途。

[0006] 发明背景

[0007] Sirtulin 1(也称为NAD依赖性脱乙酰酶长寿蛋白-1(sirtuin-1))是在人类中由SIRT1基因编码的酶。它属于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)依赖性组蛋白脱乙酰酶家族并且可使多种底物脱乙酰化。Rahman,S.等人,Cell Communication and Signaling 9:11(2011)。因此,sirtulin 1已被描述为在广泛生理功能中发挥作用,包括控制基因表达、新陈代谢和衰老。而且,异常sirtulin活性与某些人类疾病(例如,神经变性疾病如ALS)相关。

[0008] 肌萎缩性侧索硬化症(ALS),也称为运动神经元病(MND)或卢伽雷氏病(Lou Gehrig's disease),是影响脑和脊髓中的神经细胞(特别是控制随意肌肉运动的那些)的进行性神经变性疾病。症状可包括肌肉僵硬、肌肉抽搐、由于肌肉大小减小所致的逐渐无力,以及最终丧失行走、用手、说话、吞咽和呼吸的能力。最近基于群体的研究表明,ALS影响全球每100,000人中介于4.1与8.4人之间。而且,平均而言,ALS患者在诊断后的预期寿命是约3至5年。ALS的确切原因尚不清楚,并且目前尚无治愈方法。目前可用的治疗(例如,机械通气、饲管、物理和言语治疗)仅解决潜在症状。因此,非常需要治疗ALS的新的且更有效的方法。

发明内容

[0009] 本文提供了一种治疗有需要的受试者的肌萎缩性侧索硬化症(ALS)的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂)。

[0010] 在一些方面,所述miRNA抑制剂增加所述受试者中SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平。在一些方面,所述受试者患有与SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平降低相关的ALS。

[0011] 在一些方面,所述miRNA抑制剂诱导自噬和/或治疗或预防炎症。

[0012] 在一些方面,所述miRNA抑制剂增加所述受试者中CD36蛋白和/或CD36基因的水平。在一些方面,所述受试者患有与CD36蛋白和/或CD36基因的水平降低相关的ALS。

[0013] 在一些方面,所述miRNA抑制剂增加所述受试者中PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的

水平。在一些方面,所述受试者患有与PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的水平降低相关的ALS。

[0014] 在一些方面,可用于上述方法中的miR-485抑制剂诱导神经发生。在某些方面,诱导神经发生包括神经干细胞和/或祖细胞的增殖、分化、迁移和/或存活增加。在一些方面,诱导神经发生包括神经干细胞和/或祖细胞的数量增加。在一些方面,诱导神经发生包括轴突、树突和/或突触发育增加。在一些方面,miR-485抑制剂诱导吞噬作用。

[0015] 本文还提供了一种治疗有需要的受试者中与异常SIRT1蛋白和/或SIRT1基因水平相关的疾病或疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂),其中所述miRNA抑制剂增加所述SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平。本文还提供了一种治疗有需要的受试者中与异常CD36蛋白和/或CD36基因水平相关的疾病或疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂),其中所述miRNA抑制剂增加所述CD36蛋白和/或CD36基因的水平。本文还提供了一种治疗有需要的受试者中与异常PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因水平相关的疾病或疾患的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485的化合物(miRNA抑制剂),其中所述miRNA抑制剂增加所述PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的水平。

[0016] 在一些方面,所述miRNA抑制剂抑制miR485-3p。在一些方面,所述miR485-3p包含5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3'(SEQ ID NO:1)。在一些方面,所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列,所述核苷酸序列包含5'-UGUAUGA-3'(SEQ ID NO:2),并且其中所述miRNA抑制剂包含约6至约30个核苷酸的长度。

[0017] 在一些方面,所述miRNA抑制剂增加SIRT1基因的转录和/或SIRT1蛋白的表达。

[0018] 在一些方面,所述miRNA抑制剂在所述核苷酸序列的5'包含至少1个核苷酸、至少2个核苷酸、至少3个核苷酸、至少4个核苷酸、至少5个核苷酸、至少6个核苷酸、至少7个核苷酸、至少8个核苷酸、至少9个核苷酸、至少10个核苷酸、至少11个核苷酸、至少12个核苷酸、至少13个核苷酸、至少14个核苷酸、至少15个核苷酸、至少16个核苷酸、至少17个核苷酸、至少18个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸。在一些方面,所述miRNA抑制剂在所述核苷酸序列的3'包含至少1个核苷酸、至少2个核苷酸、至少3个核苷酸、至少4个核苷酸、至少5个核苷酸、至少6个核苷酸、至少7个核苷酸、至少8个核苷酸、至少9个核苷酸、至少10个核苷酸、至少11个核苷酸、至少12个核苷酸、至少13个核苷酸、至少14个核苷酸、至少15个核苷酸、至少16个核苷酸、至少17个核苷酸、至少18个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸。

[0019] 在一些方面,所述miRNA抑制剂具有选自以下组成的组的序列:5'-UGUAUGA-3'(SEQ ID NO:2)、5'-GUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:3)、5'-CGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:4)、5'-CCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:5)、5'-GCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:6)、5'-AGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:7)、5'-GAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:8)、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:9)、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:10)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:11)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:12)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:13)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:14)、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:15)、5'-UGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:16)、5'-GUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:17)、5'-CGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:18)、5'-CCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:19)、5'-GCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:20)、5'-AGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:21)、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ

ID NO:22)、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:23)、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:24)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:25)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:26)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:27)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:28)、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:29)和5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)。

[0020] 在一些方面,所述miRNA抑制剂具有选自以下组成的组的序列:5'-TGTATGA-3'(SEQ ID NO:62)、5'-GTGTATGA-3'(SEQ ID NO:63)、5'-CGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:64)、5'-CCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:65)、5'-GCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:66)、5'-AGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:67)、5'-GAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:68)、5'-AGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:69)、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:70)、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:71)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:72)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:73)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:74)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:75)、5'-TGTATGAC-3'(SEQ ID NO:76)、5'-GTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:77)、5'-CGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:78)、5'-CCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:79)、5'-GCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:80)、5'-AGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:81)、5'-GAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:82)、5'-AGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:83)、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:84)、5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:85)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:86)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:87)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:88)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:89)和5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90)。

[0021] 在一些方面,所述miRNA抑制剂的序列与5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90)具有至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%序列同一性。在某些方面,所述miRNA抑制剂具有与5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90)具有至少90%相似性的序列。在一些方面,所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90),具有一个取代或两个取代。在一些方面,所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90)。在一些方面,所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)。

[0022] 在一些方面,所述miRNA抑制剂包含至少一种经修饰的核苷酸。在某些方面,所述至少一种经修饰的核苷酸是锁核酸(LNA)、解锁核酸(UNA)、阿拉伯核酸(ABA)、桥联核酸(BNA)和/或肽核酸(PNA)。

[0023] 在一些方面,所述miRNA抑制剂包含主链修饰。在某些方面,所述主链修饰是二氨基磷酸酯吗啉代低聚物(PMO)和/或硫代磷酸酯(PS)修饰。

[0024] 在一些方面,所述miRNA抑制剂在递送剂中递送。在某些方面,所述递送剂是胶束、外泌体、脂质纳米颗粒、细胞外囊泡或合成囊泡。

[0025] 在一些方面,所述miRNA抑制剂通过病毒载体递送。在某些方面,所述病毒载体是

AAV、腺病毒、逆转录病毒或慢病毒。在一些方面,所述病毒载体是具有血清型AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或它们的任何组合的AAV。

[0026] 在一些方面,所述miRNA抑制剂与递送剂一起递送。在某些方面,所述递送剂包括类脂质、脂质体、脂质复合物、脂质纳米颗粒、聚合化合物、肽、蛋白质、细胞、纳米颗粒模拟物、纳米管或缀合物。

[0027] 在一些方面,所述递送剂包含阳离子载体单元,所述阳离子载体单元包含

[0028] [WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (式I)

[0029] 或

[0030] [WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (式II)

[0031] 其中

[0032] WP是水溶性生物聚合物部分;

[0033] CC是带正电荷的载体部分;

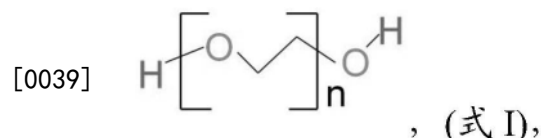
[0034] AM是佐剂部分;并且,

[0035] L1和L2独立地是任选的接头,并且

[0036] 其中当以约1:1的离子比率与核酸混合时,所述阳离子载体单元形成胶束。

[0037] 在一些方面,所述miRNA抑制剂通过离子键与所述阳离子载体单元相互作用。在一些方面,所述水溶性聚合物包括聚(烷二醇)、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯二醇)、聚(乙烯基吡咯烷酮)、聚(羟烷基甲基丙烯酰胺)、聚(甲基丙烯酸羟烷基酯)、聚(糖类)、聚(α -羟基酸)、聚(乙二醇)、聚甘油、聚磷腈、聚噁唑啉(“POZ”)聚(N-丙烯酰吗啉)或它们的任何组合。在其它方面,所述水溶性聚合物包括聚乙二醇(“PEG”)、聚甘油或聚(丙二醇)(“PPG”)。

[0038] 在一些方面,所述水溶性聚合物包含:



[0040] 在一些方面,n是1-1000。在某些方面,n是至少约110、至少约111、至少约112、至少约113、至少约114、至少约115、至少约116、至少约117、至少约118、至少约119、至少约120、至少约121、至少约122、至少约123、至少约124、至少约125、至少约126、至少约127、至少约128、至少约129、至少约130、至少约131、至少约132、至少约133、至少约134、至少约135、至少约136、至少约137、至少约138、至少约139、至少约140或至少约141。在其它方面,n是约80至约90、约90至约100、约100至约110、约110至约120、约120至约130、约140至约150、约150至约160。

[0041] 在一些方面,所述水溶性聚合物是直链的、支链的或树枝状的。

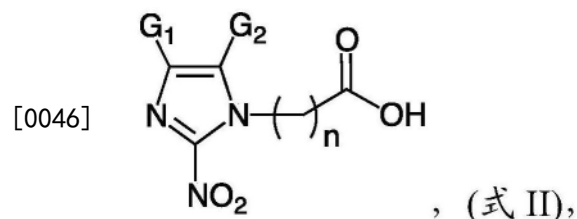
[0042] 在一些方面,所述阳离子载体部分包含一个或多个碱性氨基酸。在某些方面,所述阳离子载体部分包含至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个、至少31个、至少32个、至少33个、至少34个、至少35个、至少36个、至少37个、至少38个、至少39个、至少40个、至少41个、至少42个、至少43个、至少44个、至少45个、至少46个、至少47个、至少48个、至少49个或至少50个碱性氨基

酸。在某些方面,所述阳离子载体部分包含约30至约50个碱性氨基酸。

[0043] 在一些方面,所述碱性氨基酸包括精氨酸、赖氨酸、组氨酸或它们的任何组合。在一些方面,所述阳离子载体部分包含约40个赖氨酸单体。

[0044] 在一些方面,所述佐剂部分能够调节免疫应答、炎症应答和/或组织微环境。在某些方面,所述佐剂部分包含咪唑衍生物、氨基酸、维生素或它们的任何组合。

[0045] 在一些方面,所述佐剂部分包含:

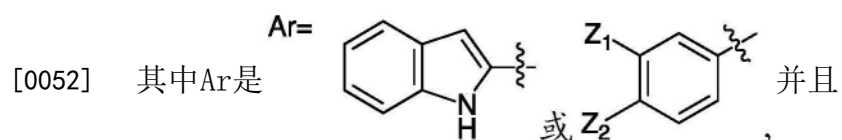
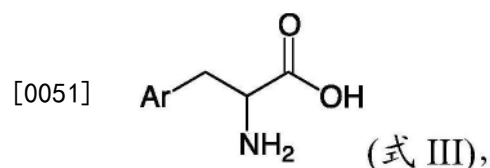


[0047] 其中G1和G2各自是H、芳族环或1-10烷基,或者G1和G2一起形成芳族环,并且其中n是1-10。

[0048] 在一些方面,所述佐剂部分包含硝基咪唑。在某些方面,所述佐剂部分包含甲硝唑、替硝唑、尼莫唑、地美硝唑、普瑞玛尼 (pretomanid)、奥硝唑、美格唑 (megazol)、阿扎硝唑、苄硝唑或它们的任何组合。

[0049] 在一些方面,所述佐剂部分包含氨基酸。

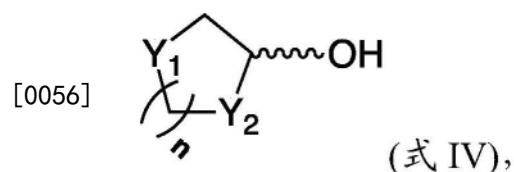
[0050] 在一些方面,所述佐剂部分包含



[0053] 其中Z1和Z2各自是H或OH。

[0054] 在一些方面,所述佐剂部分包含维生素。在某些方面,所述维生素包含环状环或环状杂原子环和羧基或羟基。

[0055] 在一些方面,所述维生素包含:



[0057] 其中Y1和Y2各自是C、N、O或S,并且其中n是1或2。

[0058] 在一些方面,所述维生素选自由以下组成的组:维生素A、维生素B1、维生素B2、维生素B3、维生素B6、维生素B7、维生素B9、维生素B12、维生素C、维生素D2、维生素D3、维生素E、维生素M、维生素H以及它们的任何组合。例如,所述维生素可以是维生素B3。

[0059] 在一些方面,所述佐剂部分包含至少约两个、至少约三个、至少约四个、至少约五个、至少约六个、至少约七个、至少约八个、至少约九个、至少约十个、至少约11个、至少约12

个、至少约13个、至少约14个、至少约15个、至少约16个、至少约17个、至少约18个、至少约19个或至少约20个维生素B3。在某些方面,所述佐剂部分包含约10个维生素B3。

[0060] 在一些方面,所述递送剂约包含具有约120至约130个PEG单元的水溶性生物聚合物部分、包含具有约30至约40个赖氨酸的聚赖氨酸的阳离子载体部分和具有约5至约10个维生素B3的佐剂部分。

[0061] 在一些方面,所述递送剂与所述miRNA抑制剂缔合,从而形成胶束。例如,所述缔合可以是共价键、非共价键或离子键。

[0062] 在一些方面,所述胶束中的阳离子载体单元和miRNA抑制剂在溶液中混合,使得所述阳离子载体单元的正电荷与所述miRNA抑制剂的负电荷的离子比率是约1:1。在一些方面,所述阳离子载体单元能够保护所述miRNA抑制剂免于酶促降解。

[0063] 在一些方面中,可用本公开治疗的ALS包括散发性ALS、家族性ALS或两者。在一些方面,所述miRNA抑制剂延迟ALS发作。在一些方面,所述miRNA抑制剂提高受试者的肌肉强度。

[0064] 在一些方面,所述递送剂是胶束。在一些方面,所述胶束包含 (i) 约100至约200个PEG单元; (ii) 约30至约40个赖氨酸,各自具有胺基团; (iii) 约15至约20个赖氨酸,各自具有硫醇基团;以及 (iv) 约30至约40个赖氨酸,各自连接至维生素B3。在一些方面,所述胶束包含 (i) 约120至约130个PEG单元; (ii) 约32个赖氨酸,各自具有胺基团; (iii) 约16个赖氨酸,各自具有硫醇基团;以及 (iv) 约32个赖氨酸,各自连接至维生素B3。

[0065] 在一些方面,靶向部分进一步连接至所述PEG单元。在一些方面,所述靶向部分是LAT 1靶向配体。在一些方面,所述靶向部分是苯丙氨酸(penny1 alanine)。

附图说明

[0066] 图1示出本公开的载体单元的示例性架构。所呈现的实施例包括阳离子载体部分,所述阳离子载体部分可与阴离子有效载荷静电相互作用,所述阴离子有效载荷例如核酸,如靶向基因的反义寡核苷酸,例如,miRNA (反义微小RNA (antimir))。在一些方面,AM可位于WP与CC之间。为简单起见,CC和AM组分以线性排列方式描绘。然而,如本文所述,在一些方面,CC和AM可以支架方式排列。

[0067] 图2A和2B提供野生型(WT)和ALS (SOD1-G93A) 小鼠中PGC-1 α 蛋白和/或IL-1 β 蛋白表达的比较。图2A示出脊髓组织(腰椎区域)中PGC-1 α 和IL-1 β 蛋白两者的表达。图2B示出骨骼肌中PGC-1 α 蛋白的表达。

[0068] 图3A、3B和3C提供用miR-485抑制剂“(1)”或PBS“(2)”处理的ALS小鼠中疾病发作和存活的比较。图3A提供在用miR-485抑制剂处理后未显示疾病发作的小鼠的百分比。图3B提供在用miR-485抑制剂处理的小鼠中发生的疾病发作的天数平均值。图3C提供存活曲线的比较。

[0069] 图4提供如通过悬丝测试测量的用miR-485抑制剂“(1)”或PBS“(2)”处理的ALS小鼠的肌肉强度的比较。肌肉强度由动物在跌落前能够抓住悬丝的时间量(即跌落的潜伏时间)显示。

[0070] 图5A和5B示出miR-485抑制剂的施用分别对雄性大鼠和雌性大鼠的体重没有可观察到的影响。如所示,雄性大鼠和雌性大鼠接受了以下剂量的miR-485抑制剂之一: (i) 0mg/

kg (G1), (ii) 3.75mg/kg (G2), (iii) 7.5mg/kg (G3), 和 (iv) 15mg/kg (G4)。在miR-485抑制剂施用后第0天、第3天、第7天和第14天测量体重。

[0071] 图6A和6B示出,miR-485抑制剂的施用分别对雄性大鼠和雌性大鼠的死亡率没有影响。如所示,雄性大鼠和雌性大鼠接受了以下剂量的miR-485抑制剂之一:(i) 0mg/kg (G1), (ii) 3.75mg/kg (G2), (iii) 7.5mg/kg (G3), 和 (iv) 15mg/kg (G4)。从miR-485抑制剂施用后0至14天每天测量动物的死亡率。

[0072] 图7A和7B示出当分别向雄性大鼠和雌性大鼠施用miR-485抑制剂时,miR-485抑制剂的施用没有持久的临床副作用。如所示,雄性大鼠和雌性大鼠接受了以下剂量的miR-485抑制剂之一:(i) 0mg/kg (G1), (ii) 3.75mg/kg (G2), (iii) 7.5mg/kg (G3), 和 (iv) 15mg/kg (G4)。测量到的不良反应包括以下:(i) NOA (无可观察到的异常), (ii) 充血 (尾部), (iii) 水肿 (面部), (iv) 水肿 (前肢) 和 (v) 水肿 (后肢)。在miR-485抑制剂施用后0小时、0.5小时、1小时、2小时、4小时、6小时、1天、3天、5天、8天、11天和14天测量副作用。

[0073] 图8A和8B示出miR-485抑制剂的施用分别在雄性大鼠和雌性大鼠中没有可观察到的病理异常。如所示,雄性大鼠和雌性大鼠接受了以下剂量的miR-485抑制剂之一:(i) 0mg/kg (G1), (ii) 3.75mg/kg (G2), (iii) 7.5mg/kg (G3), 和 (iv) 15mg/kg (G4)。

[0074] 图9A、9B、9C、9D、9E、9F、9G、9H和9I示出在ALS小鼠模型中静脉内施用miR-485抑制剂的治疗效果。图9A提供实验设计的示意图。图9B提供与对照动物相比,用miR-485抑制剂处理的小鼠中的疾病发作的比较。图9C提供在不同时间点(即,出生后107、114、119、121和123天)对于用PBS (“1”) 或miR-485抑制剂 (“2”) 处理的ALS小鼠,转棒潜伏期(动物从转棒跑步机上跌落的时间)的比较。图9D提供在不同时间点(即,出生后107、114、119、121和123天)对于用PBS (“1”) 或miR-485抑制剂 (“2”) 处理的ALS小鼠,动物从金属丝笼跌落时的潜伏期的比较。图9E和9F提供用PBS (“1”) 或miR-485抑制剂 (“2”) 处理的ALS小鼠的脚滑数目(图9E) 和跨过梁的长度所用时间(图9F) 的比较。脚滑数据是在出生后110天测量的。在五个不同的时间点(即,出生后107、114、119、121和123天) 测量梁跨过时间。图9G示出用miR-485抑制剂(正方形) 或PBS对照(圆圈) 处理的ALS小鼠随时间变化的平均体重。图9H提供来自不同处理组的动物中作为峰值体重的百分比的体重减轻的比较。图9I提供用miR-485抑制剂(正方形) 或PBS对照(圆圈) 处理的ALS动物的存活曲线。

[0075] 图10A、10B、10C和10D示出miR-485抑制剂对用野生型SOD1或包含G93A突变的SOD1 (SOD1G93A) 构建体转染的NSC-34细胞的影响。图10A提供显示miR-485抑制剂对SOD1聚集的影响的蛋白质印迹分析。图10B提供对SOD1聚集影响的免疫荧光分析。前三列(从左至右) 示出用野生型SOD1转染并用(i) PBS对照(顶行)、(ii) 50nM的miR-485抑制剂(中间行) 或(iii) 100nM的miR-485抑制剂(底行) 处理的NSC-34细胞的结果。最后三列(从左至右) 示出用SOD1G93A构建体转染并用(i) PBS对照(顶行)、(ii) 50nM的miR-485抑制剂(中间行) 或(iii) 100nM的miR-485抑制剂(底行) 处理的NSC-34细胞的结果。第1列和第4列示出仅GFP表达。第2列和第4列示出仅LC3B的表达。第3列和第6列示出GFP和LC3B表达的叠加。白色箭头指示用SOD1G93A转染并用miR-485抑制剂处理的NSC-34细胞中的SOD1G93A聚集。图10C提供miR-485抑制剂对SIRT1和PGC-1 α 蛋白表达的影响的蛋白质印迹分析。图10D提供对裂解的半胱天冬酶3蛋白表达的影响的蛋白质印迹分析。

具体实施方式

[0076] 本公开涉及miR-485抑制剂的用途,所述miR-485抑制剂包含编码核苷酸分子的核苷酸序列,所述核苷酸分子包含至少一个miR-485结合位点,其中所述核苷酸分子不编码蛋白质。在一些方面,所述一个或多个miRNA结合位点可结合至内源性miR-485,所述内源性miR-485抑制和/或降低内源性SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达水平。在一些方面,内源性miR-485与一个或多个miRNA结合位点的结合可抑制和/或降低内源性CD36蛋白和/或CD36基因的表达水平。类似地,在一些方面,内源性miR-485与一个或多个miRNA结合位点的结合可抑制和/或降低内源性PGC-1 α 的表达水平。在一些方面,内源性miR-485与一个或多个miRNA结合位点的结合可抑制和/或降低内源性NRG1蛋白和/或NRG1基因的表达水平。在一些方面,内源性miR-485与一个或多个miRNA结合位点的结合可抑制和/或降低内源性STMN2蛋白和/或STMN2基因的表达水平。在一些方面,内源性miR-485与一个或多个miRNA结合位点的结合可抑制和/或降低内源性NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的表达水平。因此,在一些方面,本公开涉及一种增加有需要的受试者中SIRT1蛋白和/或SIRT1基因水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用miR-485抑制剂。在其它方面,增加受试者中SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平可用于治疗与SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平降低相关的疾病或疾患。在一些方面,本公开涉及一种增加有需要的受试者中CD36蛋白和/或CD36基因水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用miR-485抑制剂。在其它方面,增加受试者中CD36蛋白和/或CD36基因的水平可用于治疗与CD36蛋白和/或CD36基因的水平降低相关的疾病或疾患。在一些方面,本公开涉及一种增加有需要的受试者中PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用miR-485抑制剂。在其它方面,增加受试者中PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的水平可用于治疗与PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的水平降低相关的疾病或疾患。在一些方面,本公开涉及一种增加有需要的受试者中NRG1蛋白和/或NRG1基因水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用miR-485抑制剂。在其它方面,增加受试者中NRG1蛋白和/或NRG1基因的水平可用于治疗与NRG1蛋白和/或NRG1基因的水平降低相关的疾病或疾患。在一些方面,本公开涉及一种增加有需要的受试者中STMN2蛋白和/或STMN2基因水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用miR-485抑制剂。在其它方面,增加受试者中STMN2蛋白和/或STMN2基因的水平可用于治疗与STMN2蛋白和/或STMN2基因的水平降低相关的疾病或疾患。在一些方面,本公开涉及一种增加有需要的受试者中NRXN1蛋白和/或NRXN1基因水平的方法,所述方法包括向所述受试者施用miR-485抑制剂。在其它方面,增加受试者中NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的水平可用于治疗与NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的水平降低相关的疾病或疾患。如本文所公开,可用本公开治疗的疾病或疾患是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。

[0077] 在更详细地描述本公开之前,应当理解,本公开不限于所描述的特定组合物或方法步骤,因此此类组合物或方法步骤当然可变化。本领域技术人员在阅读本公开时将显而易见的是,本文所描述且说明的各个个别方面具有离散的组分和特征,所述组分和特征可容易地与任何另外的若干方面的特征分离或组合而不偏离本公开的范围或精神。任何叙述的方法均可以叙述的事件的顺序或以在逻辑上可能的任何其它顺序进行。

[0078] 本文提供的标题并非是对本公开的各个方面的限制,所述各个方面可通过参考说明书整体来限定。还应理解,本文使用的术语仅出于描述特定方面的目的,并且并不意图是

限制性的,因为本公开的范围将仅受所附权利要求限制。

[0079] I. 术语

[0080] 为了能够更容易地理解本公开内容,首先定义某些术语。如本申请中所使用的,除非本文另有明确规定,否则以下术语中的每一个应具有下文所述的含义。另外的定义在整个申请中阐述。

[0081] 应注意,术语“一个/种(a或an)”实体是指一个/种或多个/种所述实体;例如,“一个核苷酸序列”应理解为表示一个或多个核苷酸序列。因此,术语“一个(种)”、“一个(种)或多个(种)”和“至少一个(种)”在本文中可互换使用。还应注意,权利要求可以被草拟为排除任何任选的要素。因此,对于与叙述权利要求要素结合使用的像“单独”、“只”等这样的排他性术语或所使用的“否定性”限制,这份说明书仅欲充当一个先行基础。

[0082] 此外,当在本文中使用时,“和/或”应视为特定公开两个指定特征或组分中的每一者,伴有或不伴有另一者。因此,本文在短语中使用的术语“和/或”诸如“A和/或B”意为包括:“A和B”;“A或B”;“A”(单独);和“B”(单独)。同样,如在诸如“A、B和/或C”的短语中使用术语“和/或”意图包括以下方面的每一方面:A、B和C;A、B或C;A或C;A或B;B或C;A和C;A和B;B和C;A(单独的);B(单独的);和C(单独的)。

[0083] 应当理解,本文无论在何处用措辞“包含/包括(comprising)”来描述方面,都还提供了以“由……组成”和/或“基本上由……组成”描述的其它类似方面。

[0084] 除非另外定义,否则本文所用的所有技术和科学术语都具有与由本公开所相关领域中的普通技术人员通常理解相同的含义。举例来说,Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology,Juo,Pei-Show,第2版,2002,CRC Press;The Dictionary of Cell and Molecular Biology,第3版,1999,Academic Press;以及Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology,修订版,2000,Oxford University Press对技术人员提供本公开中使用的许多术语的综合词典。

[0085] 单位、前缀和符号以它们的国际单位制(SI)接受形式表示。数值范围包括界定范围的数值。在列举值的范围的情况下,应理解的是,还具体公开了在该范围的所列举的上限与下限之间的每个居间整数值及其每个分数,以及在此类值之间的每个子范围。任何范围的上限和下限都可以独立地包括在该范围内或从该范围中排除,并且其中包括任一个限值、两个限值都不包括或包括两个限值的每个范围也涵盖于本公开中。因此,本文所列举的范围应理解为所述范围内所有值(包括所列举端点)的简写。例如,1至10的范围被理解为包括来自1、2、3、4、5、6、7、8、9和10组成的组中的任何数值、数值组合或子范围。

[0086] 在明确列举值的情况下,应当理解,与所列举的值大致相同的数量或量的值也在本公开的范围。在公开组合的情况下,还具体公开了该组合的元素的每个子组合,并且所述子组合在本公开的范围。相反,在分别公开不同元素或元素组的情况下,也公开了其组合。在本公开的任何要素被公开为具有多个替代方案的情况下,特此还公开了其中每个替代方案单独地或与其它替代方案组合被排除在外的本公开的实施例;本公开的多于一个要素可具有此类排除,并且特此公开了具有此类排除的要素的所有组合。

[0087] 核苷酸可以由其普遍接受的单字母码表示。除非另外指示,否则核苷酸序列以5'至3'定向从左至右书写。核苷酸在本文中以其由IUPAC-IUB生物化学命名委员会推荐的众所周知的单字母符号提及。因此,‘a’代表腺嘌呤,‘c’代表胞嘧啶,‘g’代表鸟嘌呤,‘t’代表

胸腺嘧啶,并且‘u’代表尿嘧啶。

[0088] 氨基酸序列从左至右以氨基至羧基的取向书写。氨基酸可以在本文中由其通常已知的由IUPAC-IUB生物化学命名委员会推荐的三字母符号或单字母符号来表示。

[0089] 术语“约”在本文中用于意指近似、大致、约或在……左右。当术语“约”与数值范围结合使用时,其通过使边界延伸高于和低于阐述的数值来修饰那个范围。一般来说,术语“约”可通过例如向上或向下(升高或降低)10%的变化修饰高于或低于所述值的数值。

[0090] 如本文所用,术语“腺相关病毒”(AAV)包括但不限于AAV 1型、AAV 2型、AAV 3型(包括3A型和3B型)、AAV 4型、AAV 5型、AAV 6型、AAV 7型、AAV 8型、AAV 9型、AAV 10型、AAV 11型、AAV 12型、AAV 13型、AAVrh.74、蛇AAV、禽AAV、牛AAV、犬AAV、马AAV、绵羊AAV、山羊AAV、虾AAV、由Gao等人(J.Virol.78:6381(2004))和Moris等人(Virol.33:375(2004))公开的那些AAV血清型和进化枝以及现在已知或后来发现的任何其它AAV。参见例如,FIELDS等人VIROLOGY,第2卷,第69章(第4版,Lippincott-Raven Publishers)。在一些方面,“AAV”包括已知AAV的衍生物。在一些方面,“AAV”包括经修饰的或人工AAV。

[0091] 术语“施用(administration)”、“施用(administering)”及其语法变体是指通过药学上可接受的途径将组合物,如本公开的miRNA抑制剂引入受试者。通过任何合适的途径将组合物,如包含本公开的miRNA抑制剂的胶束引入受试者,所述途径包括肿瘤内、经口、经肺、鼻内、胃肠外(静脉内、动脉内、肌内、腹膜内或皮下)、经直肠、淋巴管内、鞘内、眼周或局部途径。施用包括自我施用和由另外的人施用。合适的施用途径允许组合物或剂执行其预期功能。例如,如果合适的途径是静脉内途径,则通过将组合物或剂引入受试者的静脉来施用组合物。

[0092] 如本文所用,术语“与……相关”是指两种或更多种实体或属性之间的密切关系。例如,当用于描述可用本公开治疗的疾病或疾患(例如,与异常SIRT1蛋白和/或SIRT1基因水平相关的疾病或疾患)时,术语“与……相关”是指当受试者表现出所述蛋白质和/或基因的异常表达时,受试者患有疾病或疾患的可能性增加。在一些方面,所述蛋白质和/或基因的异常表达引起所述疾病或疾患。在一些方面,异常表达不一定引起所述疾病或疾患,但与所述疾病或疾患相关。可用于确定受试者是否表现出与疾病或疾患相关的蛋白质和/或基因的异常表达的合适方法的非限制性实例在本公开的其它地方提供。

[0093] 如本文所用,在应用于一个或多个目标值时,术语“大约”是指类似于所阐述的参考值的值。在某些方面,术语“大约”是指在所阐述的参考值的任一方向上的(大于或小于)10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小范围内的值范围,除非另外说明或以另外的方式从上下文显而易见(除了这样的数值将超过可能值的100%的情况)。

[0094] 如本文所使用,术语“保守的”是指分别在所比较的两个或更多个序列的相同位置上未发生改变的多核苷酸序列或多肽序列的核苷酸或氨基酸残基。相对保守的核苷酸或氨基酸是在较为相关的序列之间比出现于序列的其它地方的核苷酸或氨基酸保守的那些核苷酸或氨基酸。

[0095] 在一些方面,如果两个或更多个序列彼此100%同一,则它们被称为“完全保守的”。在一些方面,如果两个或更多个序列彼此至少70%同一、至少80%同一、至少90%同一或至少95%同一,则它们被称为“高度保守的”。在一些方面,如果两个或更多个序列彼此约70%同一、约80%同一、约90%同一、约95%、约98%或约99%同一,则它们被称为“高度保

守的”。在一些方面,如果两个或更多个序列彼此至少30%同一、至少40%同一、至少50%同一、至少60%同一、至少70%同一、至少80%同一、至少90%同一或至少95%同一,则它们被称为“保守的”。在一些方面,如果两个或更多个序列彼此约30%同一、约40%同一、约50%同一、约60%同一、约70%同一、约80%同一、约90%同一、约95%同一、约98%同一或约99%同一,则它们被称为“保守的”。序列的保守可适用于多核苷酸或多肽的整个长度或者可适用于其部分、区或特征。

[0096] 如本文所用,术语“源自”是指从特定分子或生物体中分离或使用特定分子或生物体制备的组分,或来自特定分子或生物体的信息(例如,氨基酸或核酸序列)。例如,源自第二核酸序列的核酸序列可包括与所述第二核酸序列的核苷酸序列同一或基本相似的核苷酸序列。在核苷酸或多肽的情况下,来源物种可通过例如天然存在的诱变、人工定向诱变或人工随机诱变获得。用于获得核苷酸或多肽的诱变可以是有意定向的或有意随机的,或两者的混合。核苷酸或多肽的诱变以产生源自第一核苷酸或多肽的不同核苷酸或多肽可以是随机事件(例如,由聚合酶失真引起)并且可通过适当的筛选方法(例如如本文所述)来鉴定来源核苷酸或多肽。在一些方面,源自第二核苷酸或氨基酸序列的核苷酸或氨基酸序列分别与所述第二核苷酸或氨基酸序列具有至少约50%、至少约51%、至少约52%、至少约53%、至少约54%、至少约55%、至少约56%、至少约57%、至少约58%、至少约59%、至少约60%、至少约61%、至少约62%、至少约63%、至少约64%、至少约65%、至少约66%、至少约67%、至少约68%、至少约69%、至少约70%、至少约71%、至少约72%、至少约73%、至少约74%、至少约75%、至少约76%、至少约77%、至少约78%、至少约79%、至少约80%、至少约81%、至少约82%、至少约83%、至少约84%、至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%的序列同一性,其中第一核苷酸或氨基酸序列保留第二核苷酸或氨基酸序列的生物活性。

[0097] 如本文所用,“编码区”或“编码序列”是多核苷酸中由可翻译成氨基酸的密码子组成的一部分。虽然“终止密码子”(TAG、TGA或TAA)通常未被翻译成氨基酸,它可被认为是编码区的一部分,但是任何侧翼序列(例如启动子、核糖体结合位点、转录终止子、内含子等)并非编码区的一部分。编码区的边界通常通过位于5'末端处编码所得多肽的氨基末端的起始密码子和位于3'末端处编码所得多肽的羧基末端的翻译终止密码子决定。

[0098] 术语“互补的”和“互补性”是指通过沃森-克里克(Watson-Crick)碱基配对彼此相关的两种或更多种低聚物(即,各自包含核碱基序列),或在低聚物与靶基因之间。例如,核碱基序列“T-G-A(5'→3')”与核碱基序列“A-C-T(3'→5')”互补。互补性可以是“部分的”,其中根据碱基配对规则,给定核碱基序列的少于所有核碱基与另一核碱基序列匹配。例如,在一些方面,给定核碱基序列与其它核碱基序列之间的互补性可以是约70%、约75%、约80%、约85%、约90%或约95%。因此,在某些方面,术语“互补”是指与靶核酸序列(例如,miR-485核酸序列)至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%匹配或互补性。或者,在给定核碱基序列与其它核碱基序列之间可存在“完全”或“完美”(100%)互补性以继续所述实例。在一些方面,核碱基序列之间的互补性程度对序列之间杂交的效率和强度具有显著影响。

[0099] 术语“下游”是指位于参考核苷酸序列3'的核苷酸序列。在某些方面,下游核苷酸序列涉及转录起始点之后的序列。例如,基因的翻译起始密码子位于转录起始位点的下游。

[0100] 术语“赋形剂”和“载体”可互换使用并且是指添加至药物组合物中以进一步促进化合物,例如本公开的miRNA抑制剂的施用的惰性物质。

[0101] 如本文所用,术语“表达”是指多核苷酸产生基因产物,例如RNA或多肽的过程。它包括但不限于将多核苷酸转录成微小RNA结合位点、小发夹RNA(shRNA)、小干扰RNA(siRNA)或任何其它RNA产物。它包括但不限于将多核苷酸转录成信使RNA(mRNA)和将mRNA翻译成多肽。表达产生“基因产物”。如本文所用,基因产物可以是例如核酸,如通过基因的转录产生的RNA。如本文所用,基因产物可以是由基因的转录产生的核酸、RNA或miRNA,或从转录物翻译的多肽。本文所述的基因产物还包括具有转录后修饰的核酸,所述修饰例如为聚腺苷酸化或剪接;或具有翻译后修饰的多肽,所述修饰例如为磷酸化、甲基化、糖基化、添加脂质、与其它蛋白质亚基缔合或蛋白水解裂解。

[0102] 如本文所用,术语“同源性”是指聚合物分子之间,例如核酸分子之间的总体相关性。一般来说,术语“同源性”意味着两个分子之间的进化关系。因此,两个同源的分子将具有共同的进化祖先。在本公开的上下文中,术语同源性涵盖同一性和相似性两者。

[0103] 在一些方面,如果聚合物分子中至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或至少约99%的单体是同一的(完全相同的单体)或相似的(保守取代),则所述分子被认为是彼此“同源的”。术语“同源的”必定是指至少两个序列(例如,多核苷酸序列)之间的比较。

[0104] 在本公开的上下文中,取代(即使当它们被称为氨基酸取代时)在核酸水平下进行,即用替代氨基酸残基取代氨基酸残基通过用编码第二氨基酸的密码子取代编码第一氨基酸的密码子来进行。

[0105] 如本文所用,术语“同一性”是指聚合物分子之间,例如多核苷酸分子之间的总体单体保守性。没有任何额外限定符的术语“同一的”,例如多核苷酸A与多核苷酸B同一,意味着多核苷酸序列是100%同一的(100%序列同一性)。将两个序列描述为例如“70%同一”等同于将它们描述为具有例如“70%序列同一性”。

[0106] 两个多肽或多核苷酸序列的同一性百分比的计算例如可通过出于最佳比较目的比对两个序列来进行(例如,为了最佳比对可将空位引入第一和第二多肽或多核苷酸序列之一或两者中并且出于比较目的可忽视不相同的序列)。在某些方面,出于比较目的比对的序列的长度是参考序列的长度的至少30%、至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少90%、至少95%或100%。然后比对相应氨基酸位置的氨基酸,或在多核苷酸的情况下碱基进行比较。

[0107] 第一序列中的位置被与第二序列中相应位置相同的氨基酸或核苷酸占据时,则分子在所述位置处是同一的。两个序列之间的同一性百分比随将为了两个序列的最优比对而需要引入的空位的数目和每个空位的长度考虑在内,由所述序列共有的相同位置的数目而变化。两个序列之间的序列的比较和一致性百分比的确定可使用数学算法来完成。

[0108] 可用于比对不同序列(例如,多核苷酸序列)的合适软件程序可从各种来源获得。用于确定序列同一性百分比的一种合适的程序是bl2seq,其为可从美国政府国家生物技术

信息中心BLAST网址 (blast.ncbi.nlm.nih.gov) 获得的BLAST程序套件的一部分。Bl2seq使用BLASTN或BLASTP算法进行两个序列之间的比较。BLASTN用于比较核酸序列,而BLASTP用于比较氨基酸序列。其它合适的程序是例如Needle、Stretcher、Water或Matcher,其为生物信息学程序的EMBOSS套件的一部分,并且也可从欧洲生物信息学研究所 (EBI) 在worldwideweb.ebi.ac.uk/Tools/psa获得。

[0109] 序列比对可使用本领域中已知的方法如MAFFT、Clustal (ClustalW、Clustal X或Clustal Omega)、MUSCLE等来进行。

[0110] 与多核苷酸或多肽参考序列比对的单个多核苷酸或多肽靶序列内的不同区域可各自具有其自己的序列同一性百分比。应注意,序列同一性百分比值四舍五入至最接近的十分位。例如,80.11、80.12、80.13和80.14向下舍入到80.1,而80.15、80.16、80.17、80.18和80.19向上舍入到80.2。还应注意,长度值将始终是整数。

[0111] 在某些方面,第一氨基酸序列(或核酸序列)与第二氨基酸序列(或核酸序列)的同一性百分比(%ID)被计算为 $\%ID = 100 \times (Y/Z)$,其中Y是在第一序列和第二序列的比对中评分为相同匹配的氨基酸残基(或核碱基)的数目(如通过目视检查或特定序列比对程序所比对),并且Z是第二序列中的残基总数。如果第一序列的长度长于第二序列,则第一序列与第二序列的同一性百分比将高于第二序列与第一序列的同一性百分比。

[0112] 本领域技术人员将理解,用于计算序列同一性百分比的序列比对的生成不限于仅由一级序列数据驱动的二进制序列-序列比较。还应理解,序列比对可通过将序列数据与来自异构源的数据如结构数据(例如,晶体学蛋白质结构)、功能数据(例如,突变的位置)或系统发育数据整合而产生。整合异构数据以生成多重序列比对的合适程序是可在worldwideweb.tcoffee.org获得且可替代地可例如从EBI获得的T-Coffee。还应理解,用于计算百分比序列同一性的最终比对可自动地或人工地加以验证。

[0113] 如本文所用,术语“分离的”、“纯化的”、“提取的”及其语法变体可互换地使用并且是指已进行一个或多个纯化过程的本公开的所需组合物,例如本公开的miRNA抑制剂的制剂状态。在一些方面,如本文所用的分离或纯化是从含有污染物的样品中除去、部分除去(例如,一部分)本公开的组合物,例如本公开的miRNA抑制剂的过程。

[0114] 在一些方面,分离的组合物没有可检测的不希望的活性,或者可替代地,不希望的活性的水平或量处于或低于可接受的水平或量。在其它方面,分离的组合物在本公开的所需组合物的量和/或浓度处于或高于可接受的量和/或浓度和/或活性。在其它方面,与从其中获得组合物的起始材料相比,分离的组合物得到富集。这种富集可以是与起始材料相比,至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%、至少约99.9%、至少约99.99%、至少约99.999%、至少约99.9999%或大于99.9999%。

[0115] 在一些方面,分离的制剂基本上不含残留生物产物。在一些方面,分离的制剂100%不含、至少约99%不含、至少约98%不含、至少约97%不含、至少约96%不含、至少约95%不含、至少约94%不含、至少约93%不含、至少约92%不含、至少约91%不含或至少约90%不含任何污染性生物物质。残留生物产物可包括非生物物质(包括化学物质)或不想要的核酸、蛋白质、脂质或代谢物。

[0116] 如本文所用,术语“连接的”是指第一氨基酸序列或多核苷酸序列分别共价或非共

价连接至第二氨基酸序列或多核苷酸序列。第一氨基酸或多核苷酸序列可直接连接至第二氨基酸或多核苷酸序列或与第二氨基酸或多核苷酸序列并置,或者可替代地插入序列可将第一序列共价连接至第二序列。术语“连接”不仅指第一多核苷酸序列在5'-端或3'-端与第二多核苷酸序列的融合,而且包括将整个第一多核苷酸序列(或第二多核苷酸序列)插入第二多核苷酸序列(或相应地第一多核苷酸序列)中的任何两个核苷酸中。第一多核苷酸序列可通过磷酸二酯键或接头与第二多核苷酸序列连接。接头可以是例如多核苷酸。

[0117] 如本文所用,“miRNA抑制剂”是指可降低、改变和/或调节miRNA表达、功能和/或活性的化合物。miRNA抑制剂可以是与靶miRNA核酸序列至少部分互补的多核苷酸序列,使得所述miRNA抑制剂与所述靶miRNA序列杂交。例如,在一些方面,本公开的miR-485抑制剂包含编码与靶miR-485核酸序列至少部分互补的核苷酸序列,使得所述miR-485抑制剂与所述miR-485序列杂交。在其它方面,miR-485与miR-485序列的杂交降低、改变和/或调节miR-485的表达、功能和/或活性(例如,杂交导致SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达增加)。

[0118] 术语“miRNA”、“miR”和“微小RNA”可互换地使用,并且是指在真核生物中发现的参与基于RNA的基因调控的微小RNA分子。所述术语将用于指由前体加工的单链RNA分子。在一些方面,术语“反义低聚物”也可用于描述本公开的微小RNA分子。本文提供了与本公开有关的miRNA的名称及其序列。微小RNA通过不完美的碱基配对识别并结合至靶mRNA,从而导致靶mRNA的不稳定或翻译抑制,并且由此下调靶基因表达。相反,通过包含miRNA结合位点的分子(通常是包含与miRNA的种子区互补的序列的分子)靶向miRNA可减少或抑制miRNA诱导的翻译抑制,从而导致靶基因上调。

[0119] 术语“错配(mismatch)”或“错配(mismatches)”是指低聚物核碱基序列(例如,miR-485抑制剂)中根据碱基配对规则与靶核酸序列(例如,miR-485)不匹配的一个或多个核碱基(无论是连续的还是分离的)。虽然通常需要完美互补性,但在一些方面,可相对于靶核酸序列存在一个或多个(例如,6、5、4、3、2或1个错配)。包括在低聚物内的任何位置处的变化。在某些方面,本公开的反义低聚物(例如,miR-485抑制剂)包括末端附近的核碱基序列的变化、内部的变化,并且如果存在,通常在5'和/或3'末端的约6、5、4、3、2或1个亚基范围内。在一些方面,可除去一个、两个或三个核碱基并且仍然提供中靶结合。

[0120] 如本文所用,术语“调节”、“修饰”及其语法变体当应用于特定浓度、水平、表达、功能或行为时,通常是指通过增加或降低,例如直接地或间接地促进/刺激/上调或干扰/抑制/下调特定浓度、水平、表达、功能或行为进行改变的能力,诸如,例如以充当拮抗剂或激动剂。在一些情况下,调节剂可相对于对照、或相对于通常可预期的平均活性水平、或相对于对照活性水平,增加和/或降低特定浓度、水平、活性或功能。在一些方面,本文公开的miRNA抑制剂(例如miR-485抑制剂)可调节(例如,降低、改变或消除)miR-485表达、功能和/或活性,并且由此调节SIRT1蛋白或基因表达和/或活性。

[0121] “核酸”、“核酸分子”、“核苷酸序列”、“多核苷酸”及其语法变化形式可互换使用并且是指呈单链形式或双链螺旋形式的核糖核苷(腺苷、鸟苷、尿苷或胞苷;“RNA分子”)或脱氧核糖核苷(脱氧腺苷、脱氧鸟苷、脱氧胸苷或脱氧胞苷;“DNA分子”)的磷酸酯聚合形式或其任何磷酸酯类似物,如硫代磷酸酯和硫酯。单链核酸序列是指单链DNA(ssDNA)或单链RNA(ssRNA)。双链DNA-DNA、DNA-RNA和RNA-RNA螺旋是可能的。术语核酸分子,并且特别是DNA或RNA分子,仅指分子的一级和二级结构,并切不将其限于任何特定三级形式。因此,这一术语

包括尤其见于线性或环状DNA分子(例如限制片段)、质粒、超螺旋DNA和染色体中的双链DNA。在讨论特定双链DNA分子的结构时,在本文中可根据仅沿非转录DNA链(即具有与mRNA同源的序列的链)以5'至3'方向给出序列的正常惯例来描述序列。“重组DNA分子”是经过分子生物学操作的DNA分子。DNA包括但不限于cDNA、基因组DNA、质粒DNA、合成DNA和半合成DNA。本公开的“核酸组合物”包含一种或多种如本文所述的核酸。

[0122] 术语“药学上可接受的载体”、“药学上可接受的赋形剂”及其语法变化形式涵盖美国联邦政府的监管机构批准的或美国药典中列出的用于包括人在内的动物的任何剂,以及不会导致产生以至于禁止向受试者施用所述组合物的程度的不希望有的生理效应并且不会消除所施用的化合物的生物活性和性质的任何载体或稀释剂。包括可用于制备药物组合物并且通常是安全、无毒且合乎需要的赋形剂和载体。

[0123] 如本文所用,术语“药物组合物”是指本文所述的一种或多种化合物,诸如(例如)与一种或多种其它化学组分,诸如药学上可接受的载体和赋形剂混合或掺混或悬浮在其中的本公开的miRNA抑制剂。药物组合物的一个目的是促进包含本公开的miRNA抑制剂的制剂至受试者的施用。

[0124] 如本文所用的术语“多核苷酸”是指任何长度的核苷酸聚合物,包括核糖核苷酸、脱氧核糖核苷酸、其类似物或其混合物。

[0125] 在一些方面,所述术语是指分子的一级结构。因此,所述术语包括三链、双链和单链脱氧核糖核酸(“DNA”),以及三链、双链和单链核糖核酸(“RNA”)。它还包括修饰(例如通过烷基化和/或通过加帽)和未修饰形式的多核苷酸。

[0126] 在一些方面,术语“多核苷酸”包括聚脱氧核糖核苷酸(含有2-脱氧-D-核糖);聚核糖核苷酸(含有D-核糖),包括tRNA、rRNA、shRNA、siRNA、miRNA和mRNA,无论是剪接的还是未剪接的;为嘌呤或嘧啶碱基的N-或C-糖苷的任何其它类型的多核苷酸;以及含有正核苷酸主链的其它聚合物,例如聚酰胺(例如,肽核酸“PNA”)和聚吗啉代聚合物;以及其它合成的序列特异性核酸聚合物,条件是所述聚合物含有呈允许碱基配对和碱基堆积,如在DNA和RNA中发现的构型的核碱基。

[0127] 在本公开的一些方面,多核苷酸可以是例如寡核苷酸,如反义寡核苷酸。在一些方面,寡核苷酸是RNA。在一些方面,RNA是合成RNA。在一些方面,合成mRNA包含至少一个非天然核碱基。在一些方面,某一类别的所有核碱基已被非天然核碱基替代(例如,本文公开的多核苷酸中的所有尿苷都可被非天然核碱基,例如5-甲氧基尿苷替代)。

[0128] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用以指例如由SIRT1基因编码的任何长度的氨基酸聚合物。所述聚合物可包含经修饰的氨基酸。所述术语还涵盖已经天然地或通过干预修饰的氨基酸聚合物;例如二硫键形成、糖基化、脂化、乙酰化、磷酸化或任何其它操纵或修饰,诸如与标记组分缀合。定义中还包括例如含有一种或多种氨基酸类似物(包括,例如非天然氨基酸,诸如高半胱氨酸、鸟氨酸、对乙酰基苯丙氨酸、D-氨基酸和肌酸)以及本领域已知的其它修饰的多肽。如本文所用,术语“多肽”是指具有任何大小、结构或功能的蛋白质、多肽和肽。

[0129] 多肽包括基因产物、天然存在的多肽、合成多肽、同源物、直向同源物、横向同源物、前述的片段和其它等效物、变体和类似物。

[0130] 多肽可以是单个多肽或者可以是多分子复合物,如二聚物、三聚物或四聚物。它们

还可包含单链或多链多肽。最常见地,二硫键存在于多链多肽中。术语多肽还可应用于氨基酸聚合物,其中一个或多个氨基酸残基是相应的天然存在的氨基酸的人工化学类似物。在一些方面,“肽”可小于或等于约50个氨基酸长,例如约5、约10、约15、约20、约25、约30、约35、约40、约45或约50个氨基酸长。

[0131] 如本文所使用的术语“预防 (prevent)”、“预防 (preventing)”及其变体是指部分或完全延迟疾病、病症和/或疾患的发作;部分或完全延迟特定疾病、病症和/或疾患的一种或多种症状、特征或临床表现的发作;部分或完全延迟特定疾病、病症和/或疾患的一种或多种症状、特征或表现的发作;部分或完全延迟从特定疾病、病症和/或疾患的进展;和/或降低发展与疾病、病症和/或疾患相关的病理的风险。在一些方面,通过防治性治疗来实现预防结果。

[0132] 如本文所用,术语“启动子”和“启动子序列”可互换使用并且是指能够控制编码序列或功能性RNA的表达的DNA序列。一般来说,编码序列位于启动子序列的3'。启动子可全部来源于天然基因,或由来源于自然界中发现的不同启动子的不同元件构成,或甚至包含合成的DNA区段。本领域技术人员应理解不同启动子可在不同组织或细胞类型中、或在不同发育阶段、或响应于不同环境或生理条件来引导基因的表达。引起基因大部分时候在大部分细胞类型中表达的启动子通常被称为“组成型启动子”。引起基因在特定细胞类型中表达的启动子通常被称为“细胞特异性启动子”或“组织特异性启动子”。引起基因在发育或细胞分化的特定阶段表达的启动子通常被称为“发育特异性启动子”或“细胞分化特异性启动子”。在用诱导启动子的剂、生物分子、化学品、配体、光等暴露或处理细胞后被诱导并引起基因表达的启动子通常被称为“诱导型启动子”或“可调控的启动子”。进一步认识到由于在大部分情况下调控序列的精确边界未完全限定,具有不同长度的DNA片段可具有相同的启动子活性。

[0133] 启动子序列通常在其3'末端上通过转录起始位点结合并且向上游(5'方向)延伸以包括启动高于背景的可检测水平转录所需的最小数目的碱基或元件。在启动子序列内将发现转录起始位点(通常例如通过用核酸酶S1映射来限定)以及负责RNA聚合酶的结合的蛋白质结合结构域(共有序列)。在一些方面,可与本公开一起使用的启动子包括组织特异性启动子。

[0134] 如本文所用,“防治性 (prophylactic)”是指用于预防疾病或疾患的发作或用于预防或延迟与疾病或疾患相关的症状的治疗或作用过程。

[0135] 如本文所用,“防治 (prophylaxis)”是指为维持健康和预防疾病或疾患的发作或预防或延迟与疾病或疾患相关的症状而采取的措施。

[0136] 如本文所用,术语“基因调控区”或“调控区”是指位于编码区上游(5'非编码序列)、编码区内或编码区下游(3'非编码序列)的核苷酸序列,并且其影响相关编码区的转录、RNA加工、稳定性或翻译。调控区可包括启动子、翻译前导序列、内含子、聚腺苷酸化识别序列、RNA加工位点、效应子结合位点或茎环结构。如果编码区意图在真核细胞中表达,则聚腺苷酸化信号和转录终止序列通常将位于编码区的3'。

[0137] 在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂(例如,编码包含一个或多个miR-485结合位点的RNA的多核苷酸)可包含与一个或多个编码区可操作地关联的启动子和/或其它表达(例如,转录)控制元件。在可操作关联中,基因产物的编码区按以下这种方式与一个或多个

调控区缔合,所述方式使得所述基因产物的表达处于所述一个或多个调控区的影响或控制之下。例如,如果启动子功能的诱导导致编码由所述编码区编码的基因产物的mRNA的转录,并且如果所述启动子与所述编码区之间的连键的性质不干扰表达启动子引导基因产物的表达的能力或不干扰DNA模板转录的能力,那么所述编码区和启动子“可操作地关联”。除了启动子以外,其它表达控制元件例如增强子、操纵子、阻遏子以及转录终止信号也能够与编码区可操作地关联以便引导基因产物表达。

[0138] 如本文所用,术语“相似性”是指聚合物分子之间,例如多核苷酸分子(例如miRNA分子)之间的总体相关性。可与同一性百分比计算相同的方式进行聚合物分子彼此的相似性百分比的计算,除了相似性百分比计算将如本领域中所理解的保守性取代考虑在内。应当理解,相似性百分比取决于所使用的比较量表,即是否例如根据核酸的进化相近性、电荷、体积、柔性、极性、疏水性、芳香性、等电点、抗原性或它们的组合来对核酸进行比较。

[0139] 术语“受试者”、“患者”、“个体”和“宿主”及其变体在本文中可互换使用,并且是指需要诊断、治疗或疗法的任何哺乳动物受试者,包括但不限于人、家养动物(例如,狗、猫等)、农场动物(例如,牛、羊、猪、马等)和实验室动物(例如,猴、大鼠、小鼠、兔、豚鼠等),特别是人。本文描述的方法适用于人的疗法和兽医应用。

[0140] 如本文所用,短语“有需要的受试者”包括将受益于施用本公开的miRNA抑制剂(例如,miR-485抑制剂)例如以增加SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达水平的受试者,如哺乳动物受试者。

[0141] 如本文所用,术语“治疗有效量”是指足以对有需要的受试者产生所需的治疗作用、药理学和/或生理学作用的包含本公开的miRNA抑制剂的试剂或药物化合物的量。在防治可视为疗法时,治疗有效量可以是“防治有效量”。

[0142] 如本文所用,术语“治疗(treat)”、“治疗(treatment)”或“治疗(treating)”是指例如疾病或疾患的严重程度的降低;病程持续时间的缩短;与疾病或疾患(例如,糖尿病)相关的一种或多种症状的改善或消除;向患有疾病或疾患的受试者提供有益作用,但不一定治愈所述疾病或疾患。所述术语还包括疾病或疾患或其症状的防治或预防。

[0143] 术语“下游”是指位于参考核苷酸序列5'的核苷酸序列。

[0144] “载体”是指用于将核酸克隆和/或转移至宿主细胞中的任何运载体。载体可以是复制子,另一个核酸区段可连接至所述复制子以引起所连接的区段的复制。“复制子”是指充当体内复制的自主单元,即能够在其自身控制下复制的任何遗传元件(例如,质粒、噬菌体、粘粒、染色体、病毒)。术语“载体”包括用于在体外、离体或体内将核酸引入细胞中的病毒和非病毒媒介物。大量载体是本领域已知和使用的,包括例如质粒、经修饰的真核病毒或经修饰的细菌病毒。将多核苷酸插入合适的载体中可通过将适当的多核苷酸片段连接至具有互补粘性末端的选定载体中来完成。

[0145] 可对载体进行工程化以编码选择性标记物或报告基因,所述选择性标记物或报告基因提供已掺入所述载体的细胞的选择或鉴定。选择性标记物或报告基因的表达允许鉴定和/或选择掺入并表达所述载体上含有的其它编码区的宿主细胞。本领域已知和使用的选择性标记物基因的实例包括:提供对氨苄青霉素、链霉素、庆大霉素、卡那霉素、潮霉素、双丙氨膦除草剂、磺胺等的抗性的基因;以及用作表型标记物的基因,即花青素调控基因、异戊基转移酶基因等。本领域中已知和使用的报告基因的实例包括:荧光素酶(Luc)、绿色荧

光蛋白 (GFP)、氯霉素乙酰转移酶 (CAT)、 β -半乳糖苷酶 (LacZ)、 β -葡萄糖醛酸酶 (Gus) 等。选择性标记物也可被认为是报告基因。

[0146] II. 使用方法

[0147] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂可通过调控一种或多种基因的表达和/或活性来发挥治疗效果(例如,在患有神经变性疾病,例如ALS的受试者中)。如本文所述,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂能够调控选自SIRT1、CD36、PGC1、NRXN1、STMN2、NRG1或它们的组合的基因的表达和/或活性。不受任一种理论的束缚,通过这种调控,miR-485抑制剂可影响许多生物过程,包括但不限于蛋白质稳态(例如,SIRT1)、与线粒体相关的那些生物过程(例如,PGC1 α)、神经炎症(例如,CD36和SIRT1)、神经发生/突触发生(例如,SIRT1、PGC1 α 、STMN2、NRG1和NRXN1)。

[0148] SIRT1调控

[0149] 在一些方面,本公开提供了一种增加有需要的受试者中SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂)。在某些方面,抑制miR-485活性增加受试者中SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达。

[0150] 长寿蛋白1 (SIRT1),也称为NAD依赖性去乙酰化酶长寿蛋白-1,是人类中由SIRT1基因编码的蛋白质。SIRT1基因位于人类中10号染色体上 (GenBank登录号NC_000010.11的核苷酸67,884,656至67,918,390,正链取向)。SIRT1基因的同义词及其编码蛋白是已知的并且包括“调控蛋白SIR2同源物1”、“沉默接合型信息调控2同源物1”、“SIR2”、“SIR2样蛋白1”、“SIR2L1”、“SIR2 α ”、“长寿蛋白1型”、“hSIRT1”或“hSIR2”。

[0151] 存在由选择性剪接产生的至少两种已知的人SIRT1蛋白异型体。SIRT1异型体1 (UniProt标识符:Q96EB6-1) 由747个氨基酸组成,并且已被选择作为规范序列 (SEQ ID NO: 31)。SIRT1异型体2 (也称为“ δ -外显子8”) (UniProt标识符:Q96EB6-2) 由561个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:454-639:缺失 (SEQ ID NO:32)。下表1提供两种SIRT1异型体的序列。

[0152] 表1. SIRT1蛋白异型体

[0153] 异型体 1 (UniProt: Q96EB6-1) (SEQ ID NO: 31)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDG PGLERSPGEPGGAAPEREVPAARGCPGAAAAALWREAEAE AAAAGGEQEAQATAAAGEGDNGPGLQGPSREPLADNLYD EDDDDEGESEEEEEAAAAAIGYRDNLLFGDEIITNGFHSCESDEE DRASHASSDWTTPRPRIGPYTFVQQHLMIGTDPRTILKDLLPE TIPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRKKRKDINTIEDAVKLLQE
--	---

	CKKIIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLDPDQA MFDIEYFRKDP RPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSDKEGK LLRNYTQNIDTLEQVAGIQRIIQCHGSFATASCLICKYKVDCE AVRGDIFNQVVPRCPRCPADEPLAIMKPEIVFFGENLPEQFHR AMKYDKDEVDLLIVIGSSLKVRPVALIPSSIPHEVPQILINREP LPHLHFDVELLGDCDVIINELCHRLGGGEYAKLCCNPVKLSEIT EKPPRTQKELAYLSELPTPLHVSEDSSSPERTSPPDSSVIVTLL DQAAKSNDDLDVSESKGCMEEKPQEVQTSRNVESIAEQMEN PDLKNVGSSTGEKNERTSVAGTVRKCWPNRVAKEQISRRLD GNQYLFLPPNRYIFHGAEVYSDSEDDVLSSSSCGSNSDSGTCQ SPSLEEPMEDESEIEEFYNGLEDEPDVPERAGGAGFGTDGDD QEAINAISVKQEVTD MNYP SNKS	
[0154]	异型体 2 (UniProt: Q96EB6-2) (SEQ ID NO: 32)	MADEAALALQPGGSPSAAGADREAASSPAGEPLRKRPRRDG PGLERSPGEPGGAAPERREVPAAARGCPGAAAAALWREAEAE AAAAGGEQEAQATAAAGEGDNGPGLQGSPREPPLADNLYD EDDDDEGEEEEEEAAAAAIGYRDNLLFGDEIITNGFHSCESDEE DRASHASSSDWTTPRPRIGPYTFVQQHLMIGTDPRTILKDLLPE TIPPELDDMTLWQIVINILSEPPKRKKRKDINTIEDAVKLLQE CKKIIIVLTGAGVSVSCGIPDFRSRDGIYARLAVDFPDLDPDQA MFDIEYFRKDP RPFFKFAKEIYPGQFQPSLCHKFIALSDKEGK LLRNYTQNIDTLEQVAGIQRIIQCHGSFATASCLICKYKVDCE AVRGDIFNQVVPRCPRCPADEPLAIMKPEIVFFGENLPEQFHR AMKYDKDEVDLLIVIGSSLKVRPVALIPSNQYLFLPPNRYIFH GAEVYSDSEDDVLSSSSCGSNSDSGTCQSPSLEEPMEDESEIE EFYNGLEDEPDVPERAGGAGFGTDGDDQEAINAISVKQEVTD MNYP SNKS

[0155] 如本文所用,术语“SIRT1”包括由细胞天然表达的SIRT1的任何变体或异型体。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加SIRT1异型体1的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加SIRT1异型体2的表达。在其它方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加SIRT1异型体1和异型体2两者的表达。除非另外指示,否则异型体1和异型体2两者在本文中统称为“SIRT1”。

[0156] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂使SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%或至少约300%。

[0157] 不受任一种理论的束缚,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂通过降低miR-485(例如miR-485-3p)的表达和/或活性来增加SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达。在一些方面,本公开的miR-485抑制剂可降低miR-485-3p的表达和/或活性。

[0158] 在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂使miR-485-3p的表达和/或活性与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中的miR-485-3p表达)相比降低至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或约100%。在某些方面,本文公开的miR-485抑制剂使miR-

485-5p的表达和/或活性与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中的miR-485-5p表达)相比降低至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或约100%。在其它方面,本文公开的miR-485抑制剂使miR-485-3p和miR-485-5p两者的表达和/或活性与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中的miR-485-3p和miR-485-5p表达)相比降低至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%或约100%。在一些方面,在施用miR-485抑制剂后,miR-485-3p和/或miR-485-5p的表达被完全抑制。

[0159] 如本文所述,本公开的miR-485抑制剂在施用于受试者时可增加SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中与SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的异常(例如,降低)水平相关的疾病或疾患的方法。在一些方面,与SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的异常(例如,降低的)水平相关的疾病或疾患是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。在某些方面,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂),其中所述miR-485抑制剂增加SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的水平。

[0160] CD36调控

[0161] 如本文所述,申请人已经鉴定人CD36 3'-UTR包含miR-485-3p的靶位点并且miR-485-3p的结合可降低CD36表达(参见例如,实施例7和8)。因此,在一些方面,本公开提供了一种增加有需要的受试者中CD36蛋白和/或CD36基因的表达的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂)。在某些方面,抑制miR-485活性增加受试者中CD36蛋白和/或CD36基因的表达。

[0162] 分化簇36 (CD36) 也称为血小板糖蛋白4,是人类中由CD36基因编码的蛋白质。CD36基因位于7号染色体上(GenBank登录号NC_000007.14的核苷酸80,602,656至80,679,277,正链取向)。CD36基因的同义词及其编码蛋白是已知的,并且包括“血小板糖蛋白IV”、“脂肪酸转位酶”、“清道夫受体B类成员3”、“糖蛋白88”、“糖蛋白IIIb”、“糖蛋白IV”、“血小板反应蛋白受体”、“GPIIIB”、“PAS IV”、“GP3B”、“GPIV”、“FAT”、“GP4”、“BDPLT10”、“SCARB3”、“CHDS7”、“PASIV”或“PAS-4”。

[0163] 存在由选择性剪接产生的至少四种已知的人CD36蛋白异型体。CD36异型体1(UniProt标识符:P16671-1)由472个氨基酸组成,并且已被选择作为规范序列(SEQ ID NO:36)。CD36异型体2(也称为“ex8-del”) (UniProt标识符:P16671-2)由288个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:274-288:SIYAVFESDVNLKGI→ETCVHFTSSFSVCKS;以及289-472:缺失(SEQ ID NO:37)。CD36异型体3(也称为“ex6-7-del”) (UniProt标识符:P16671-3)由433个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:234-272:缺失(SEQ ID NO:38)。CD36异型体4(也称为“ex4-del”) (UniProt标识符:P16671-4)由412个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:144-203:缺失(SEQ ID NO:39)。下表2提供四种CD36异型体的序列。

[0164] 表2.CD36蛋白异型体

[0165]

异型体 1 (UniProt: P16671-1) (SEQ ID NO: 36)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQV VLEEGTIAFKNWVKTGTGEVYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNI QVKQRGPYTYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLIN KSKSSMFQVRTLRELLWGYRDPFLSLVPYPVTTTVGLFYYPYN NTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNLSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRSIYAVFESDVN LKGIPVYRFVLPSKAFASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVL DISKCKEGRPVYISLPHFLYASPDVSEPIDGL NPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQVNLLVKPSEKIQVLK NLKRNYIVPILWLNETGTIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEM ILLSVGVMFVAFMISYCACRSKTIK
异型体 2 (UniProt: P16671-2) (SEQ ID NO: 37)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQV VLEEGTIAFKNWVKTGTGEVYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNI QVKQRGPYTYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAAASHIYQNQFVQMILNSLIN KSKSSMFQVRTLRELLWGYRDPFLSLVPYPVTTTVGLFYYPYN NTADGVYKVFNGKDNISKVAIIDTYKGKRNLSYWE SHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVLQFFSSDICRETCVHFTSSFS VCKS
异型体 3 (UniProt: P16671-3) (SEQ ID NO: 38)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQV VLEEGTIAFKNWVKTGTGE VYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNIQVKQRGPYTYRVRFLAKE NVTQDAEDNTVSFLQPNGAIFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVA AASHIYQNQFVQMILNSLINKSKSSMFQVRTLRELLW GYRDPFLSLVPYPVTTTVGLFYYPYNNTADGVYKVFNGKDNIS KVAIIDTYKGKRSIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLPSKAFASP ENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPV YISLPHFLYASPDVSEPIDGLNPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFA KRLQVNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETGTIGDEKA NMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAF MISYCACRSKTIK
异型体 4 (UniProt: P16671-4) (SEQ ID NO: 39)	MGCDRNCGLIAGAVIGAVLAVFGGILMPVGDLLIQKTIKKQV VLEEGTIAFKNWVKTGTGEVYRQFWIFDVQNPQEVMMNSSNI QVKQRGPYTYRVRFLAKENVTQDAEDNTVSFLQPNGA IFEPSLSVGTEADNFTVLNLAVAYNNTADGVYKVFNGKDNIS KVAIIDTYKGKRNLSYWESHCDMINGTDAASFPPFVEKSQVL QFFSSDICRSIYAVFESDVNLKGIPVYRFVLPSKAF ASPVENPDNYCFCTEKIISKNCTSYGVLDISKCKEGRPVYISLP HFLYASPDVSEPIDGLNPNEEEHRTYLDIEPITGFTLQFAKRLQ VNLLVKPSEKIQVLKNLKRNYIVPILWLNETG TIGDEKANMFRSQVTGKINLLGLIEMILLSVGVMFVAFMISY CACRSKTIK

[0166] 如本文所用,术语“CD36”包括由细胞天然表达的CD36的任何变体或异型体。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加CD36异型体1的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加CD36异型体2的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加CD36异型体3的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加CD36异型体4的表达。在其它方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加CD36异型体1和异型体2、和/或异型体3

和异型体4、和/或异型体1和异型体4、和/或异型体2和异型体3两者的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加所有CD36异型体的表达。除非另外指示,否则异型体1、异型体2、异型体3和异型体4在本文中统称为“CD36”。

[0167] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂使CD36蛋白和/或CD36基因的表达与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中CD36蛋白和/或CD36基因的表达)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%或至少约300%。

[0168] 不受任一种理论的束缚,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂通过降低miR-485的表达和/或活性来增加CD36蛋白和/或CD36基因的表达。存在两种已知的miR-485成熟形式:miR-485-3p和miR-485-5p。如本文所公开,在一些方面,本公开的miR-485抑制剂可降低miR-485-3p的表达和/或活性。在一些方面,miR-485抑制剂可降低miR-485-5p的表达和/或活性。在其它方面,本文公开的miR-485抑制剂可降低miR-485-3p和miR-485-5p两者的表达和/或活性。

[0169] 如本文所述,本公开的miR-485抑制剂在施用于受试者时可增加CD36蛋白和/或CD36基因的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中与CD36蛋白和/或CD36基因的异常(例如,降低)水平相关的疾病或疾患的方法。在一些方面,与CD36蛋白和/或CD36基因的异常(例如,降低的)水平相关的疾病或疾患是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。在某些方面,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂),其中所述miR-485抑制剂增加CD36蛋白和/或CD36基因的水平。

[0170] PGC1调控

[0171] 本文提供的公开内容证明本公开的miR-485抑制剂可进一步调控例如患有本文公开的疾病或病症(参见例如实施例3)的受试者中PGC-1 α 的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种增加有需要的受试者中PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的表达的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂)。在某些方面,抑制miR-485活性增加受试者中PGC-1 α 蛋白和/或PGC-1 α 基因的表达。

[0172] 过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅激活剂1- α (PGC1- α),也称为PPARG辅激活剂1 α 或配体效应调节剂-6,是在人类中由PPARGC1A基因编码的蛋白质。PGC1- α 基因位于人类中4号染色体上(GenBank登录号NC_000004.12的核苷酸23,792,021至24,472,905,正链取向)。PGC1- α 基因的同义词及其编码蛋白是已知的,并且包括“PPARGC1A”、“LEM6”、“PGC1”、“PGC1A”、“PGC-1v”、“PPARGC1”、“PGC1 α ”或“PGC-1(α)”。

[0173] 存在由选择性剪接产生的至少九种已知的人PGC1- α 蛋白异型体。PGC1- α 异型体1(UniProt标识符:Q9UBK2-1)由798个氨基酸组成,并且已被选择作为规范序列(SEQ ID NO: 40)。PGC1- α 异型体2(也称为“异型体NT-7a”)(UniProt标识符:Q9UBK2-2)由271个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:269-271:DPK→LFL;272-798:缺失(SEQ ID NO:41)。PGC1- α 异型体3(也称为“异型体B5”)(UniProt标识符:Q9UBK2-3)由803个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:1-18:MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDETSRLEEDWKKVLQREAGWQ(SEQ ID NO: 42)。PGC1- α 异型体4(也称为“异型体B4”)(UniProt标识符:Q9UBK2-4)由786个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:1-18:MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDEGYF(SEQ ID NO:43)。PGC1- α

异型体5(也称为“异型体B4-8a”) (UniProt标识符:Q9UBK2-5) 由289个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:1-18:MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDEGYF;294-301:LTPPTTPP→VKTNLISK;302-798:缺失(SEQ ID NO:44)。PGC1- α 异型体6(也称为“异型体B5-NT”) (UniProt标识符:Q9UBK2-6) 由276个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:1-18:MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDETSPRLEEDWKKVLQREAGWQ;269-271:DPK→LFL;272-798:缺失(SEQ ID NO:45)。PGC1- α 异型体7(也称为“异型体B4-3ext”) (UniProt标识符:Q9UBK2-7) 由138个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:1-18:MAWDMCNQDSESVWSDIE→MDEGYF;144-150:LKKLLLA→VRTLPTV;151-798:缺失(SEQ ID NO:46)。PGC1- α 异型体8(也称为“异型体8a”) (UniProt标识符:Q9UBK2-8) 由301个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:294-301:LTPPTTPP→VKTNLISK;302-798:缺失(SEQ ID NO:47)。PGC1- α 异型体9(也称为“异型体9”或“L-PGG-1 α ”) (UniProt标识符:Q9UBK2-9) 由671个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:1-127:缺失(SEQ ID NO:48)。下表3提供九种PGC1- α 异型体的序列。

[0174] 表3.PGC1- α 蛋白异型体

[0175] 异型体 1 (UniProt: Q9UBK2-1) (SEQ ID NO: 40)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSEL DVNDLDTDSFLGGLKWCSDDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEEN EANLLAVLTETLDSLPPVEDDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPS SMPDGTTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQN HANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSEL LKYLTTNDDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTP PTTPPHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGT QGNNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVLTGGHEERKTKRPSLRLF GDHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGGIC SSTDSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAE LNKH F GHPSQAVFDDEADKTGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSLAMD GLFDDSEDES DKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFN SPCRDSV
--	---

[0176]

	SPPKSLFSQRPQRMRSRERSFSRHRSCSRSPYSRERSRSPGSRSSSRSCYYYESSHYRHRTHRNSPLYVRSRERSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREEYRREYEKRESERAKQRERQRQKAIEERRVIYVGKIRPDTRTELDRFEVFGIEIECTVNLRDDGDSYGFIITYRYTCDAFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDSSLKEAQRSLRR
异型体 2 (UniProt: Q9UBK2-2) (SEQ ID NO: 41)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSEL DVNDLDTDSFLGGLKWCSQDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEEN EANLLAVLTETLDSLVPDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPS SMPDGTTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQN HANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSEL LKYLTTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQ AKPTTSLPLTPESPNLFL
异型体 3 (UniProt: Q9UBK2-3) (SEQ ID NO: 42)	MDETSRLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPE LDLSELVDNDLDTDSFLGGLKWCSQDQSEIISNQYNNEPSNIFE KIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTTPPPQEAEEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSG LSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRR PCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQ SQHLQAKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGT AGLTPPTTPPHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYS ESSGTQGNNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVLTGGHEERKTKRP SLRFLGDHDYQCSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDW QGQICSSTDSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAE LNKHFHGPSQAVFDDEADKTGELRDSDFSNEQFSKLPFINSG LAMDGFLDDESEDESKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFN SPCRDSVSPKSLFSQRPQRMRSRERSFSRHRSCSRSPYSRERSR PGSRSSSRSCYYYESSHYRHRTHRNSPLYVRSRERSPYSRRPR YDSYEEYQHERLKREEYRREYEKRESERAKQRERQRQKAIEE RRVIYVGKIRPDTRTELDRFEVFGIEIECTVNLRDDGDSYG FIITYRYTCDAFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSN YADLDSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDSSLKEAQRSLRR
异型体 4 (UniProt: Q9UBK2-4) (SEQ ID NO: 43)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLG GLKWCSQDQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETL DSLVPDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGTTPPPQEA EEPSLLKKLLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPH TKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTQSQSQHLQAKPTTSLPLTPE SPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPPTTPPHKANQDN PFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQGNNSTKKGPEQ SELYAQLSKSSVLTGGHEERKTKRPSLRLFGDHDYQCSINSK TEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGQICSSTDSDQCYLRE TLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAE LNKHFHGPSQAVFDDEA DKTGELRDSDFSNEQFSKLPFINSGLAMDGFLDDESEDESK LSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNPCRDVSPKSLFSQRPQ RMRSRERSFSRHRSCSRSPYSRERSRSPGSRSSSRSCYYYESSH YRHRTHRNSPLYVRSRERSPYSRRPRYDSYEEYQHERLKREE YRREYEKRESERAKQRERQRQKAIEERRVIYVGKIRPDTRT ELDRFEVFGIEIECTVNLRDDGDSYGFIITYRYTCDAFAALE NGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADLDSNSDDFDPAS

	TKSKYDSLDFDSLLEKEA QRSLRR
异型体 5 (UniProt: Q9UBK2-5) (SEQ ID NO: 44)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLG GLKWCSAQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETL DSLVPDEDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGTTPPPQEA EPESSLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNHANHNHRIRTNP AIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELLKYLTTNDPPH TKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTSQSQHLQAKPTTSLPLTPE SPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKTNLISK
异型体 6 (UniProt: Q9UBK2-6) (SEQ ID NO: 45)	MDETSRLEEDWKKVLQREAGWQCAALVGEDQPLCPDLPE LDLSELVDNDLDTDSFLGGLKWCSAQSEIISNQYNNEPSNIFE KIDEENEANLLAVLTETLDSLVPDEDEDGLPSFDALTDGDVTTD NEASPSSMPDGTTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSG LSTQNHANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRR PCSELLKYLTTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTSQS SQHLQAKPTTSLPLTPESPNTLFL
异型体 7 (UniProt: Q9UBK2-7) (SEQ ID NO: 46)	MDEGYFCAALVGEDQPLCPDLPELDLSELVDNDLDTDSFLG GLKWCSAQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEENEANLLAVLTETL DSLVPDEDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPSSMPDGTTPPPQEA EPESLVRTLPTV
异型体 8 (UniProt: Q9UBK2-8) (SEQ ID NO: 47)	MAWDMCNQDSESVWSDIECAALVGEDQPLCPDLPELDLSEL VDNDLDTDSFLGGLKWCSAQSEIISNQYNNEPSNIFEKIDEEN EANLLAVLTETLDSLVPDEDEDGLPSFDALTDGDVTTDNEASPS SMPDGTTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQN HANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSEL LKYLTTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTSQSQHLQ AKPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGVKT NLISK
异型体 9 (UniProt: Q9UBK2-9) (SEQ ID NO: 48)	MPDGTTPPPQEAEEPSLLKKLLAPANTQLSYNECSGLSTQNH ANHNHRIRTNPAIVKTENSWSNKAKSICQQQKPQRRPCSELL KYLTTNDPPHTKPTENRNSSRDKCTSKKKSHTSQSQHLQA KPTTSLPLTPESPNDPKGSPFENKTIERTLSVELSGTAGLTPP TTPPHKANQDNPFRA SPKLKSSCKTVVPPPSKKPRYSESSGTQ GNNSTKKGPEQSELYAQLSKSSVLTGGHEERKTKRPSLRFLG DHDYCQSINSKTEILINISQELQDSRQLENKDVSSDWQGGICS STSDQCYLRETLEASKQVSPCSTRKQLQDQEIRAELENKHFG HPSQAVFDDEADKTGELRDSDFSNEQFSKLPMFINSGLAMDG LFDDSEDESDKLSYPWDGTQSYSLFNVSPSCSSFNSPCRDSVS PPKSLFSQRPQRMRSRFRSRHRSCSRSPYSRFRSRSPGSRSS SRSCYYYESSHYRHRTHRN SPLYVRSRFRSPYSRRPRYDSYE EYQHERLKREEYRREYEKRESERAKQRRERQKQKAIERRVIY VGKIRPDTRTELDRFEVFGIEECTVNLRDDGDSYGFITYR YTCDAFAALENGYTLRRSNETDFELYFCGRKQFFKSNYADL DSNSDDFDPASTKSKYDSLDFDSLLEKEAQRSLRR

[0177] 如本文所用,术语“PGC1- α ”包括由细胞天然表达的PGC1- α 的任何变体或异型体。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体1的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体2的表达。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体1的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体2的表达。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体3的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体4的表达。因此,在

一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体5的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体6的表达。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体7的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体8的表达。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体9的表达。在其它方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加PGC1- α 异型体1、异型体2、异型体3、异型体4、异型体5、异型体6、异型体7、异型体8和异型体9的表达。除非另外指示,否则异型体1和异型体2两者在本文中统称为“PGC1- α ”。

[0179] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂使PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因的表达与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因的表达)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%或至少约300%。

[0180] 不受任一种理论的束缚,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂通过降低miR-485的表达和/或活性来增加PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因的表达。存在两种已知的miR-485成熟形式:miR-485-3p和miR-485-5p。在一些方面,本公开的miR-485抑制剂可降低miR-485-3p的表达和/或活性。在一些方面,miR-485抑制剂可降低miR-485-5p的表达和/或活性。在其它方面,本文公开的miR-485抑制剂可降低miR-485-3p和miR-485-5p两者的表达和/或活性。

[0181] 如本文所述,本公开的miR-485抑制剂在施用于受试者时可增加PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中与PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因的异常(例如,降低)水平相关的疾病或疾患的方法。在一些方面,与PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因的异常(例如,降低的)水平相关的疾病或疾患是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。在某些方面,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂),其中所述miR-485抑制剂增加PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因的水平。

[0182] NRG1调控

[0183] 本文提供的公开内容证明本公开的miR-485抑制剂可进一步调控例如患有本文公开的疾病或病症(参见例如,ALS)的受试者中NRG1的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种增加有需要的受试者中NRG1蛋白和/或NRG1基因的表达的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂)。在某些方面,抑制miR-485活性增加受试者中NRG1蛋白和/或NRG1基因的表达。

[0184] 神经调节蛋白1是人类中由NRG1基因编码的细胞粘附分子。NRG1是神经调节蛋白家族中作用于EGFR受体家族的四种蛋白质之一。NRG1基因位于人类中8号染色体上(GenBank登录号NC_000008.11的核苷酸31,639,245至32,774,046)。NRG1基因的同义词及其编码蛋白是已知的并且包括“GGF”、“HGL”、“HRG”、“NDF”、“ARIA”、“GGF2”、“HRG1”、“HRGA”、“SMDF”、“MST131”、“MSTP131”和“NRG1-IT2”。

[0185] 存在由选择性剪接产生的至少11种已知的人NRG1蛋白异型体。NRG1异型体1(也称为“ α ”)(UniProt标识符:Q02297-1)的长度是640个氨基酸,并且已被选择作为规范序列(SEQ ID NO:91)。NRG1异型体2(也称为“ α 1A”)(UniProt标识符:Q02297-2)是648个氨基酸长,并且与规范序列的区别如下:234-234:K→KHLGIEFIE(SEQ ID NO:92)。NRG1异型体3(也

称为“ $\alpha 2B$ ”) (UniProt标识符:Q02297-3) 是462个氨基酸长,并且与规范序列的区别如下: (i) 424-462:YVSAMTTPAR...SPPVSSMTVS→HNLIAELRRN...SSIPHLGFIL;和(ii) 463-640:缺失 (SEQ ID NO:93)。 $\alpha 3$) (UniProt标识符:Q02297-4) 由247个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下: (i) 234-247:KAEELYQKRVLTIT→SAQMSLLVIAAKTT;和(ii) 248-260:缺失 (SEQ ID NO:94)。 $\beta 1$ 和“ $\beta 1A$ ”) (UniProt标识符:Q02297-6) 的长度是645个氨基酸,并且与规范序列的区别如下:213-234:QPGFTGARCTENVPMKVQNQEK→PNEFTGDRCQNYVMASFYKHLGIEFME (SEQ ID NO:95)。 $\beta 2$) (UniProt标识符:Q02297-7) 由647个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:213-233:QPGFTGARCTENVPMKVQNQEK→PNEFTGDRCQNYVMASFY。 $\beta 3$ 和“GGFHB1”) (UniProt标识符:Q02297-8) 由241个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下: (i) 213-241:QPGFTGARCTENVPMKVQNQEKAEELYQK→PNEFTGDRCQNYVMASFYSTSTPFLSLPE;and(ii) 242-640:Missing (SEQ ID NO:97)。 $\beta 4$ 和“GGF2”和“GGFHPP2”) (UniProt标识符:Q02297-9) 的长度是422个氨基酸,并且与规范序列的区别如下: (i) 1-33:MSERKEGRGKGKGGKKKERGSGKKPESAAGSQSP→MRWRRAPRRS...EVSRLVCKRC; (2) 134-168:EIITGMPASTEGAYVSSSPIRISVSTEGANTSSS→A; (3) 213-241:QPGFTGARCTENVPMKVQNQEKAEELYQK→PNEFTGDRCQNYVMASFYSTSTPFLSLPE;和(iv) 242-640:缺失 (SEQ ID NO:98X)。 $\beta 5$ 和“SMDF”) (UniProt标识符:Q02297-10) 是296个氨基酸长,并且与规范序列的区别如下: (i) 1-166:缺失; (ii) 167-167:S→MEIYSPDMSE...ETNLQTAPKL; (iii) 213-241:QPGFTGARCTENVPMKVQNQEKAEELYQK→PNEFTGDRCQNYVMASFYSTSTPFLSLPE;和(iv) 242-640:缺失 (SEQ ID NO:99)。 $\beta 6$ 和“IV- $\beta 1a$ 型”) (UniProt标识符:Q02297-11) 是590个氨基酸长,并且与规范序列的区别如下: (i) 1-21:缺失; (ii) 22-33:KKPESAAGSQSP→MGKGRAGRVGTT; (iii) 134-168:EIITGMPASTEGAYVSSSPIRISVSTEGANTSSS→A;和(iv) 213-234:QPGFTGARCTENVPMKVQNQEK→PNEFTGDRCQNYVMASFYKHLGIEFME (SEQ ID NO:100)。 $\beta 7$ 和“ $\beta 7A$ ”) (UniProt标识符:Q02297-12) 由420个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下: (i) 213-233:QPGFTGARCTENVPMKVQNQEK→PNEFTGDRCQNYVMASFY;和(ii) 424-640:缺失 (SEQ ID NO:101)。

[0186] 下表4提供NRG1蛋白的氨基酸序列,包括已知的异型体。

[0187] 表4.NRG1蛋白序列

[0188]

异型体 1 (UniProt: Q02297-1) (SEQ ID NO: 91)	MSERKEGRGKGKGKKKKERGS GKKPESAAGSQSPALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNEIITGMPASTEGAYVSSSPIRISVSTEGANTSSSTSTTTGTS HLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCQPGFTGA RCTENVPMKVQNQEKAEELYQKRVL TITGICIALLVVGIMCVV AYCKTKKQRKKLHDRLRQSLRSENNMMNIANGPHHPNPPPE NVQLVNQYVSKNVISSEHIVEREAETSFSTSHYTSTAHHSTTVT QTPSHSWSNGHTESILSESHSVIVMSSVENSRRHSSPTGGPRGRLN GTGGPRECNSFLRHARETPDSYRDSPHSERYVSAMTTPARMSP VDFHTPSSPKSPPSEMSPVSSMTVSMPSMAVSPFMEEERLLL VTPPRLREKKFDHHPQQFSSFHHPAHDSNSLPASPLRIVEDEE YETTQEYEPAQEPVKKLANSRRAKRTKPNGHIANRLEVDSNTS SQSSNSESETEDETVGEDTPFLGIQNPLAASLEATPAFRLADSRT NPAGRFSTQEEIQARLSSVIANQDPIAV
异型体 2 (UniProt: Q02297-2) (SEQ ID NO: 92)	MSERKEGRGKGKGKKKKERGS GKKPESAAGSQSPALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNEIITGMPASTEGAYVSSSPIRISVSTEGANTSSSTSTTTGTS HLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCQPGFTGA RCTENVPMKVQNQEKLHGFIEAEELYQKRVL TITGICIALLVV GIMCVVAYCKTKKQRKKLHDRLRQSLRSENNMMNIANGPHH PNPPPENVQLVNQYVSKNVISSEHIVEREAETSFSTSHYTSTAHH STTVTQTPSHSWSNGHTESILSESHSVIVMSSVENSRRHSSPTGGP RGRLNGTGGPRECNSFLRHARETPDSYRDSPHSERYVSAMTTP ARMSPVDFHTPSSPKSPPSEMSPVSSMTVSMPSMAVSPFMEEE RPLLLVTPPRLREKKFDHHPQQFSSFHHPAHDSNSLPASPLRIV

[0189]

	EDEEYETTQEYEPAQEPVKKLANSRRAKRTKPNGHIANRLEVD SNTSSQSSNSESETEDERVGEDTPFLGIQNPLAASLEATPAFRLA DSRTNPAGRFSTQEEIQARLSSVIANQDPIAV
异型体 3 (UniProt: Q02297-3) (SEQ ID NO: 93)	MSERKEGRGKGKGKKKERGSGKKPESAAGSQSPALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNEIITGMPASTEGAYVSSESPIRISVSTEGANTSSSTSTTTGTS HLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCQPGFTGA RCTENVPMKVQNQEKAEELYQKRVL TITGICIALLVVGIMCVV AYCKTKKQKRLHDRLRQSLRSENNMMNIANGPHHPNPPE NVQLVNQYVSKNVISSEHIVEREAETSFSTSHYTSTAHHSTTVT QTPSHSWSNGHTESILSESHSVIVMSSVENSRRHSSPTGGPRGRLN GTGGPRECNSFLRHARETPDSYRDSPHSERHNLIAELRRNKAHR SKCMQIQLSATHLRSSSIPHLGFIL
异型体 4 (UniProt: Q02297-4) (SEQ ID NO: 94)	MSERKEGRGKGKGKKKERGSGKKPESAAGSQSPALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNEIITGMPASTEGAYVSSESPIRISVSTEGANTSSSTSTTTGTS HLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCQPGFTGA RCTENVPMKVQNQESAQMSLLVIAAKTT
异型体 6 (UniProt: Q02297-6) (SEQ ID NO: 95)	MSERKEGRGKGKGKKKERGSGKKPESAAGSQSPALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNEIITGMPASTEGAYVSSESPIRISVSTEGANTSSSTSTTTGTS HLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDR CQNYVMASFYKHLGIEFMEAEELYQKRVL TITGICIALLVVGIM CVVAYCKTKKQKRLHDRLRQSLRSENNMMNIANGPHHPNP PPENVQLVNQYVSKNVISSEHIVEREAETSFSTSHYTSTAHHSTT VTQTPSHSWSNGHTESILSESHSVIVMSSVENSRRHSSPTGGPRGR LNGTGGPRECNSFLRHARETPDSYRDSPHSERYVSAMTTTPARM SPVDFHTPSSPKSPPSEMSPVSSMTVSMPSMAVSPFMEEERPLL LVTPPRLREKKFDHHPQQFSSFHHPAHDNSNLPASPLRIVEDEE YETTQEYEPAQEPVKKLANSRRAKRTKPNGHIANRLEVDSENTS SQSSNSESETEDERVGEDTPFLGIQNPLAASLEATPAFRLADSRT NPAGRFSTQEEIQARLSSVIANQDPIAV
异型体 7 (UniProt: Q02297-7) (SEQ ID NO: 96)	MSERKEGRGKGKGKKKERGSGKKPESAAGSQSPALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNEIITGMPASTEGAYVSSESPIRISVSTEGANTSSSTSTTTGTS HLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDR CQNYVMASFYKAEELYQKRVL TITGICIALLVVGIMCVVAYCK TKKQKRLHDRLRQSLRSENNMMNIANGPHHPNPPEENVQL VNQYVSKNVISSEHIVEREAETSFSTSHYTSTAHHSTTVTQTPSH SWSNGHTESILSESHSVIVMSSVENSRRHSSPTGGPRGRLNGTGG PRECNSFLRHARETPDSYRDSPHSERYVSAMTTTPARMSPVDFHT PSSPKSPPSEMSPVSSMTVSMPSMAVSPFMEEERPLLVTTPPRL REKKFDHHPQQFSSFHHPAHDNSNLPASPLRIVEDEEYETTQE YEPAQEPVKKLANSRRAKRTKPNGHIANRLEVDSENTSSQSSNSE SETEDERVGEDTPFLGIQNPLAASLEATPAFRLADSRTNPAGRFST QEEIQARLSSVIANQDPIAV

异型体 8 (UniProt: Q02297-8) (SEQ ID NO: 97)	MSERKEGRGKGKGKKKERGSGKKPESAAGSQSPALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNEITGMPASTEGAYVSSSESPIRISVSTEGANTSSSTSTSTTGTS HLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDR CQNYVMASFYSTSTPFLSLPE
异型体 9 (UniProt: Q02297-9) (SEQ ID NO: 98)	MRWRRAPRRSGRPGPRAQRPGSAARSSPPLPLLPLLLLGTAAAL APGAAAGNEAAPAGASVCYSSPPSVGQELAQRAAVVIEGKV HPQRRQQGALDRKAAAAAGEAGAWGGDREPPAAGPRALGPP AEEPLLAANGTVPSWPTAPVPSAGEPGEEAPYLKVVHQVWAV KAGGLKKDSSLTVRLGTWGHAPFSCGRLKEDSRYIFFMEPDA NSTSRAPAAFRASFPLETGRNLKKEVSRVLCKRCALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNATSTSTTGTSHLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSR YLCKCPNEFTGDRCQNYVMASFYSTSTPFLSLPE
异型体 10 (UniProt: Q02297-1 0) (SEQ ID NO: 99)	MEIYSPDMSEVAAERSSSPSTQLSADPSLDGLPAAEDMPEPQTE DGRTPGLVGLAVPCCACLEAERLRGCLNSEKICIVPILACLVSCL LCIAGLKWVFVDKIFEYDSPTHLDPGGLGQDPHISLATAASAV WVSSEAYTSPVSRAQSESEVQVTVQGDKAVVSFEPSPAAPTCKN RIFAFSFLPSTAPSFSPTRNPEVRTPKSATQPQTETNLQTAPKL STSTSTTGTSHLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLC KCPNEFTGDRCQNYVMASFYSTSTPFLSLPE
[0190] 异型体 11 (UniProt: Q02297-1 1) (SEQ ID NO: 100)	MGKGRAGRVGTTALPPRLKEMKSQESAAGSKLVLCETSSEYS SLRFKWFKNNGNELNRKNKPQNIQKKPGKSELRINKASLADSG EYMCKVISKLGNDASANITIVESNATSTSTTGTSHLVKCAEKE KTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDRCQNYVMAS FYKHLGIEFMEAEELYQKRVLTITGICIALLVGIMCVVAYCKT KKQRKKLHDRLRQSLRSENNMMNIANGPHHPNPPENVQLV NQYVSKNVISSEHIVEREAETSFSTSHYTSTAHHSTTVTQTPSHS WSNGHTESILSESHSVIVMSSVENSRRHSSPTGGPRGRLNGTGGP RECNSFLRHARETPDSYRDSPHSERYVSAMTTTPARMSPVDFHTP SSPKSPPEMSPPVSSMTVSMPSMAVSPFMEEERPLLVTPPRLR EKKFDHHPQQFSSFHHPAHDSNSLPASPLRIVEDEEYETTQEY EPAQEPVKKLANSRRAKRTKPNGHIANRLEVDSTSSQSSNSES ETEDERVGEDTPFLGIQNPLAASLEATPAFRLADSRTNPAGRFST QEEIQARLSSVIANQDPIAV
异型体 12 (UniProt: Q02297-1 2) (SEQ ID NO: 101)	MSERKEGRGKGKGKKKERGSGKKPESAAGSQSPALPPRLKEM KSQESAAGSKLVLCETSSEYSSLRFKWFKNNGNELNRKNKPQN IKIQKKPGKSELRINKASLADSGEYMCKVISKLGNDASANITIV ESNEITGMPASTEGAYVSSSESPIRISVSTEGANTSSSTSTSTTGTS HLVKCAEKEKTFCVNGGECFMVKDLSNPSRYLCKCPNEFTGDR CQNYVMASFYKAEELYQKRVLTITGICIALLVGIMCVVAYCK TKKQRKKLHDRLRQSLRSENNMMNIANGPHHPNPPENVQL VNQYVSKNVISSEHIVEREAETSFSTSHYTSTAHHSTTVTQTPSH SWSNGHTESILSESHSVIVMSSVENSRRHSSPTGGPRGRLNGTGG PRECNSFLRHARETPDSYRDSPHSER

[0191] 如本文所用,术语“NRG1”包括由细胞天然表达的NRG1的任何变体或异型体。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体1(即,规范序列)的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体2的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体3的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1

异型体4的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体6的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体7的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体8的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体9的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体10的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体11的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体12的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRG1异型体1、NRG1异型体2、NRG1异型体3、NRG1异型体4、NRG1异型体6、NRG1异型体7、NRG1异型体8、NRG1异型体9、NRG1异型体10、NRG1异型体11和NRG1异型体12的表达。除非另外指示,否则NRG1的上述异型体在本文中统称为“NRG1”。

[0192] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂使NRG1蛋白和/或NRG1基因的表达与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中NRG1蛋白和/或NRG1基因的表达)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%或至少约300%。

[0193] 不受任一种理论的束缚,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂通过降低miR-485(例如miR-485-3p)的表达和/或活性来增加NRG1蛋白和/或NRG1基因的表达。

[0194] 如本文所述,本公开的miR-485抑制剂在施用于受试者时可增加NRG1蛋白和/或NRG1基因的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中与NRG1蛋白和/或NRG1基因的异常(例如,降低)水平相关的疾病或疾患的方法。在一些方面,与NRG1蛋白和/或NRG1基因的异常(例如,降低的)水平相关的疾病或疾患是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。在某些方面,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂),其中所述miR-485抑制剂增加NRG1蛋白和/或NRG1基因的水平。

[0195] STMN2调控

[0196] 本文提供的公开内容证明本公开的miR-485抑制剂可进一步调控例如患有本文公开的疾病或病症(参见例如,ALS)的受试者中STMN2的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种增加有需要的受试者中STMN2蛋白和/或STMN2基因的表达的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂)。在某些方面,抑制miR-485活性增加受试者中STMN2蛋白和/或STMN2基因的表达。

[0197] 驿蛋白-2是驿蛋白(stathmin)磷蛋白家族的成员,并且在人类中由STMN2基因编码。驿蛋白在微管动力学和信号转导中发挥作用。所编码的蛋白质在神经元生长中起调控作用,并且也被认为参与骨生成。STMN2基因位于人类中8号染色体上(NC_000008.11的核苷酸79,611,117至79,666,162)。STMN2基因的同义词及其编码蛋白是已知的,并且包括“SCG10”和“SCGN10”。

[0198] 存在由选择性剪接产生的至少2种已知的人STMN2蛋白异型体。STMN2异型体1(UniProt标识符:Q93045-1)的长度是179个氨基酸,并且已被选择作为规范序列(SEQ ID NO:102)。STMN2异型体2(UniProt标识符:Q93045-2)的长度是187个氨基酸,并且与规范序列的区别如下:161-179:ERHAAEVR RNKELQVELSG→LVKFISSELKESIESQFLELQREGEKQ(SEQ ID NO:102)。

[0199] 下表5提供STMN2蛋白的氨基酸序列。

[0200] 表5.STMN2蛋白序列

[0201]	异型体 1 (UniProt: Q93045-1) (SEQ ID NO: 102)	MAKTAMAYKEKMKELSM LSLICSCFYPEPRNINIYTYDDMEV KQINKRASGQAFELILKPPSPISEAPRTLASPKKKDL SLEEIQKK LEAAEERRKSQEAQVLKQLAEKREHEREVLQKALEENNNFSK MAEEKLILKMEQIKENREANLAAI IERLQEKERHAAEVRNKE LQVELSG
	异型体 2 (UniProt: Q93045-2) (SEQ ID NO: 103)	MAKTAMAYKEKMKELSM LSLICSCFYPEPRNINIYTYDDMEV KQINKRASGQAFELILKPPSPISEAPRTLASPKKKDL SLEEIQKK LEAAEERRKSQEAQVLKQLAEKREHEREVLQKALEENNNFSK MAEEKLILKMEQIKENREANLAAI IERLQEKLVKFISSELKESIE SQFLELQREGEKQ

[0202] 如本文所用,术语“STMN2”包括由细胞天然表达的STMN2的任何变体或异型体。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加STMN2异型体1(即,规范序列)的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加STMN2异型体2的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加STMN2异型体1和STMN2异型体2的表达。除非另外指示,否则STMN2的上述异型体在本文中统称为“STMN2”。

[0203] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂使STMN2蛋白和/或STMN2基因的表达与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中STMN2蛋白和/或STMN2基因的表达)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%或至少约300%。

[0204] 不受任一种理论的束缚,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂通过降低miR-485(例如miR-485-3p)的表达和/或活性来增加STMN2蛋白和/或STMN2基因的表达。

[0205] 如本文所述,本公开的miR-485抑制剂在施用于受试者时可增加STMN2蛋白和/或STMN2基因的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中与STMN2蛋白和/或STMN2基因的异常(例如,降低)水平相关的疾病或疾患的方法。在一些方面,与STMN2蛋白和/或STMN2基因的异常(例如,降低的)水平相关的疾病或疾患是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。在某些方面,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂),其中所述miR-485抑制剂增加STMN2蛋白和/或STMN2基因的水平。

[0206] NRXN1调控

[0207] 本文提供的公开内容证明本公开的miR-485抑制剂可进一步调控例如患有本文公开的疾病或病症(参见例如,ALS)的受试者中NRXN1的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种增加有需要的受试者中NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的表达的方法,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物(即,miR-485抑制剂)。在某些方面,抑制miR-485活性增加受试者中NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的表达。

[0208] 轴突蛋白1是轴突蛋白蛋白质家族的成员,并且在人类中由NRXN1基因编码。轴突蛋白是在脊椎动物神经系统中作为细胞粘附分子和受体发挥作用的蛋白质家族。它们通过钙通道和囊泡胞吐作用的耦合机制参与通讯,以确保神经递质得到适当释放。NRXN1基因位于人类中2号染色体上(NC_000002.12的核苷酸49,918,503至51,032,536)。NRXN1基因的同义词及其编码蛋白是已知的,并且包括“轴突蛋白1 α ”、“轴突蛋白1 β ”、“PTHSL2”、“SCZD17”

和“Hs.22998”。

[0209] 存在由替代启动子使用产生的两种主要人NRXN1蛋白异型体:NRXN1- α 和NRXN1- β 。

[0210] 对于NRXN1- α 蛋白,存在由选择性剪接产生的至少四种已知的异型体。NRXN1异型体1a(UniProt标识符:Q9ULB1-1)是1,477个氨基酸长,并且已被选择作为规范序列(SEQ ID NO:104)。NRXN1异型体2a(UniProt标识符:Q9ULB1-2)由1,496个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:(i) 379-386:缺失;(ii) 1239-1239:A→

AGNNDNERLAIARQRIPYRLGRVVDEWLLDK;和(iii) 1373-1375:缺失(SEQ ID NO:105)。NRXN1异型体3a(UniProt标识符:Q9ULB1-3)是1,547个氨基酸长并且与规范序列的区别如下:(i) 258-258:E→EIKFGLQCVLPVLLHDNDQGYCCINTAKPLTEK;(ii) 386-386:M→MVNKLHCS;和(iii) 1239-1239:A→AGNNDNERLAIARQRIPYRLGRVVDEWLLDK(SEQ ID NO:106)。NRXN1异型体4(UniProt标识符:Q9ULB1-4)的长度是139个氨基酸,并且与规范序列的区别如下:(i) 1-1355:缺失;(ii) 1336-1344:GKPPTKEPI→MDMRWHCEN;和(iii) 1373-1375:缺失(SEQ ID NO:107)。

[0211] 对于NRXN1- β 蛋白,存在由选择性剪接产生的至少两种已知的异型体。NRXN1异型体1b(UniProt标识符:P58400-2)的长度是472个氨基酸,并且已被选择作为规范序列(SEQ ID NO:108)。NRXN1异型体3b(UniProt标识符:P58400-1)由442个氨基酸组成,并且与规范序列的区别如下:205-234:缺失(SEQ ID NO:109)。

[0212] 下表6和7提供NRXN1蛋白的氨基酸序列。

[0213] 表6.NRXN1- α 蛋白序列

[0214]

异型体 1a (UniProt 标识符: Q9ULB1-1) (SEQ ID NO: 104)	MGTALLQRGGCFLCLSLLLGCGWAEELGSGLEFPGAEGQWT RFPKWNACCESEMSFQLKTRARGLVLYFDDEGFCDLELILT RGGRLQLSFSIFCAEPATLLADTPVNDGAWHSVRIRRQFRNTT LFIDQVEAKWVEVKSKRRDMTVFSGLFVGGPPELRAAALKL TLASVREREPFKGWIRDVRVNSSQVLPVDSGEVKLDDEPPNS GGGSPCEAGEEGEGGVCLNGGVCSVDDQAVCDCSRTGFRG KDCSQEDNNVEGLAHLMMGDQGKSKGKEEYIATFKGSEYFC YDLSQNPIQSSSDEITLSFKTLQRNGLMLHTGKSADYVNLALK NGAVSLVINLGSGAFEALVEPVNGKFNDNAWHDVKVTRNLR QHSGIGHAMVTISVDGILTTTGYTQEDYTMLGSDDFFYVGGS PSTADLPGSPVSNNFMGCLKEVVYKNNDVRLELSRLAKQGD KMKIHGVVAFKCENVATLDPITFETPESFISLPKWNAAKKTGSIS FDFRTTEPNGLILFSHGKPRHQKDAKHPQMIKVDFFAIEMLDG HLYLLDMSGTIKIKALLKKVNDGEWYHVDFQRDGRSGTIS VNTLRTPYTAPGESEILDLDDELYLGGLPENKAGLVFPTEVWT ALLNYGYVGCIRDLFIDGQSKDIRQMAEVQSTAGVKPSCSKE TAKPCLSNPCKNNGMCRDGNRYVCDCSGTGYLGRSCEREA TVLSYDGSMFMKIQLPVVMHTEAEDVSLRFRSQRAYGILMAT
---	---

[0215]

	TSRDSADTLRLELDAGR.VKLT.VN.LDCIRINC.NSSKGPETL.FAGY.NLNDNE.WHTVR.VVRRGKSLKLT.VDDQ.QAMT.GQMAGDHT.RLEFHNIET.GIITERRYL.SSVPSN.FIGHLQSLTF.NGMAYIDLCKN.GDIDYCELNARFGFRNIIADP.VTFKTKSSYVALATLQAYTSMH.LFFQFKT.TSLDGLILYNSGDG.NDFIVVEL.VKGYLHYVFDLGN.GANLIK.GSSNKPLNDNQWHNVMISR.DTSNLHTVKIDTKITTQIT.AGARNLDLKS.DLYIGGVAKETYKSLPKLVHAK.EGFQGC.LASV.DLNGRLPDLISDALFC.NGQIERGCEGPSTTCQEDSCSNQGVCL.QQWDGF.SCDCSMTS.FSGPLCNDPGTTYIFS.KGGGQITYKWPP.NDRPSTRADRLAIGFSTVQKEAVLVRVDSSSGLGDYLELHIHQ.GKIGVKFNVGTDDIAIEESNAIINDGKYHVVRFTRSGGNATLQ.VDSWPVIERYPAGRQLTIFNSQATIIIGGKEQGQPFQGLSGLY.YNGLKVLNMAAENDANIAIVGNVRLVGEVPSSMTTESTATA.MQSEMSTSIMETTTTLATSTARRGKPPTKEPISQTTDDILVASA.ECPSDDEDIDPCEPSSGGLANPTRAGGREPYPGSAEVIRESSST.TGMVVGIVAAAALCILILLYAMYKYRNRDEGSYHVDES.RNYISNSAQ.SNGAVVKEKQPSSAKSSNKNKNKDKEYYV
异型体 2a (UniProt 标 识符: Q9ULB1-2) (SEQ ID NO: 105)	MGTALLQRGGCFLCLSLLLLGCWAE.LGSGLE.FPGAEGQWT.RFPKWNACCESEMSFQLKTR.SARGLVLYFDDEGF.CDFLELILT.RGGRLQLSFSIFCAEPATLLADTPVNDGAWHSVRIRRQFRNTT.LFIDQVEAKWVEVKSKRRDMTVFSGLFVGG.LPPELRAAALKL.TLASVREREPFKGWIRDVRVNSSQVLPVDSGEVKLDDEPPNS.GGGSPCEAGEEGEGGVCLNNGGVCSVDDQAVCDCSRTGFRG.KDCSQEDNNVEGLAHLMMGDQGKSKGKEEYIATFKGSEYFC.YDLSQNPIQSSSDEITLSFKTLQRNGLMLHTGKSADYVNLALK.NGAVSLVINLGS.GAFEALVEPVNGKFNDNAWHDVKVTRNLR.QVTISVDGILTTTGYTQEDYTMLGSDDFFYVGGSPSTADLPGS.PVSNNFMGCLKEVVYKNNDVRLELSRLAKQGD.PKMKIHGVV.AFKCENVATLDPITFETPESFISLPKWNAKKTGSISFDFRTTEPN.GLILFSHGKPRHQKDAKHPQMIKVDFFAIEMLDGHL.YLLLD.MGSGTIKIKALLKKVNDGEWYHVDFQRDGRSGTISVNTLRTPY.TAPGESEILDLDDEL.YLGGLPENKAGLVFPTEVWTALLNYGY.VGCIRDLFIDGQSKDIRQMAEVQSTAGVKPSCSKETAKPCLSN.PCKNNGMCRDGNRYVCDCSGTGYLGRSCEREATVLSYDGS.MFMKIQLPVVMHTEAEDVSLRFRSQRAYGILMATT.SRDSADTLRLELDAGR.VKLT.VN.LDCIRINC.NSSKGPETL.FAGY.NLNDNE.WHTVR.VVRRGKSLKLT.VDDQ.QAMT.GQMAGDHT.RLEFHNIET.GIITERRYL.SSVPSN.FIGHLQSLTF.NGMAYIDLCKN.GDIDYCELNARFGFRNIIADP.VTFKTKSSYVALATLQAYTSMH.LFFQFKT.TSLDGLILYNSGDG.NDFIVVEL.VKGYLHYVFDLGN.GANLIK.GSSNKPLNDNQWHNVMISR.DTSNLHTVKIDTKITTQIT.AGARNLDLKS.DLYIGGVAKETYKSLPKLVHAK.EGFQGC.LASV.DLNGRLPDLISDALFC.NGQIERGCEGPSTTCQEDSCSNQGVCL.QQWDGF.SCDCSMTS.FSGPLCNDPGTTYIFS.KGGGQITYKWPP.NDRPSTRADRLAIGFSTVQKEAVLVRVDSSSGLGDYLELHIHQ.GKIGVKFNVGTDDIAIEESNAIINDGKYHVVRFTRSGGNATLQ.VDSWPVIERYPAGNNDNERLAIARQRI.PYRLGRV.VDEWLLDKGRQLTIFNSQATIIIGGKEQGQPFQGLSGLY.YNGLKVLNMAAENDANIAIVGNVRLVGEVPSSMTTESTATAMQSEMSTSIMETTTTLATSTARRGKPPTKEPISQTTDDILVASA.ECPSDDEDIDPCEPSSANPT

[0216]

	RAGGREPYPGSAEVIRESSSTTGMVVGIVAAAALCILILLYAM YKYRNRDEGSYHVDESRYISNSAQSN GAVVKEKQPSSAKSS NKNKKNKDKEYYV
异型体 3a (UniProt 标 识符: Q9ULB1-3) (SEQ ID NO: 106)	MGTALLQRGGCFLCLSLLLGCAELGSGLEFPGAEGQWT RFPKWNACCESEMSFQLKTR SARGLVLYFDDEGFCDLELILT RGGRLQLSFSIFCAEPATLLADTPVNDGAWHSVRIRRQFRNTT LFIDQVEAKWVEVKSKRRDMTVFSGLFVGGLPELRAAALKL TLASVREREPFKGWIRDVRVNSSQVLPVDSGEVKLDDEPPNS GGGSPCEAGEEGEGGVCLNGGVCSVDDQAVCDCSRTGFRG KDCSQEIKFGLQCVPVLLHDNDQGKYCCINTAKPLTEKDNN VEGLAHLMMGDQGGKSKGKEEYIATFKGSEYFCYDLSQNPIQS SSDEITLSFKTLQRNGLMLHTGKSADYVNLALKNGAVSLVIN LGSGAFEALVEPVNGKFNDNAWHDVKVTRNLRQHSGIGHAM VNKLHCSV TISVDGILTTTGYTQEDYTMLGSDDFFYVGGSPST ADLPGSPVSNFMGCLKEVVYKNNDVRLELSRLAKQGDPKM KIHGVVAFKCEENVATLDPITFETPESFISLPKWNAKKTGSISFD FRTTEPNGLILFSHGKPRHQKDAKHPQMIKVDFFAIEMLDGHL YLLDMGSGTIKIKALLKKVNDGEWYHVDFQRDGRSGTISVN TLRTPYTAPGESEILDLDDELYLGGLPENKAGLVFPTEVWTAL LNYGYVGCIRDLFIDGQSKDIRQMAEVQSTAGVKPSCSKETA KPCLSNPCKNNGMCRDGNRYVCDCSGTGYLGRSCREATV LSYDGSMFMKIQLPVVMHTEAEDVSLRFRSQRAYGILMATT RDSADTLRLELDAGRVKLTVNLD CIRINCNSSKGPETL FAGYN LNDNEWHTVRVVRRGKSLKLTVD DQQAMTGQMAGDHTRLE FHNIETGIITERRYLSSVPSNFIGHLQSLTFNGMAYIDLCKNGDI DYCELNARFGFRNIIADPVTFTKSSYVALATLQAYTSMHLFF QFKTTSLDGLILYNSGDGND FIVVELVKGYLHYVFDLGNAN LIKSSNKPLNDNQWHNVMISRDTSNLHTVKIDTKITTQITAG ARNLDLKS DLYIGGVAKETYKSLPKLVHAKGFGQCLASVDL NGRLPDLISDALFCNGQIERGCEGPSTTCQEDSCSNQGVCLQQ WDGFSCDCSMTSFSGPLCNDPGTTYIFSKGGGQITYKWPPND RPSTRADRLAIGFSTVQKEAVLVRVDSSSGLGDYLELHIHQGK IGVKFNVGTDDIAIEESNAIINDGKYHVVRFRTRSGGNATLQVD SWPVIERYPAGNNDNERLAIARQRI PYRLGRVVD EWLLDKGR QLTIFNSQATIIIGGKEQGQPFQGLSGLYYNGLKVLNMAAEN DANIAIVGNVRLVGEVPSSMTTESTATAMQSEMSTSIMETTTT LATSTARRGKPPTKEPISQTTDDIL VASAECPSDDEDIDPCEPSS GGLANPTRAGGREPYPGSAEVIRESSSTTGMVVGIVAAAALCI LILLYAMYKYRNRDEGSYHVDESRYISNSAQSN GAVVKEK QPSSAKSSNKNKKNKDKEYYV
异型体 4a (UniProt 标 识符: Q9ULB1-4) (SEQ ID NO: 107)	MDMRWHCENSQTDDIL VASAECPSDDEDIDPCEPSSANPTR AGGREPYPGSAEVIRESS STTGMVVGIVAAAALCILILLYAMYKYRNRDEGSYHVDESRN YISNSAQSN GAVVKEKQP SSAKSSNKNKKNKDKEYYV

[0217] 表7.NRXN1-β蛋白序列

[0218]

异型体 1b (UniProt 标识符: P58400-2) (SEQ ID NO: 108)	MYQRMLRCGAELGSPGGGGGGGGGGGAGGRLALLWIVPLTLS GLLGVAWGASSLGAHHIHHFHGSSKHHSVPIAIYRSPASLRGGH AGTTYIFSKGGGQITYKWPPNDRPSTRADRLAIGFSTVQKEAVL VRVDSSSGLGDYLELHHQKGKIGVKFNVTDDIAIEESNAIINDG KYHVVRFRTRSGGNATLQVDSWPVIERYPAGNNDNERLAIARQR IPYRLGRVVDDEWLLDKGRQLTIFNSQATIIIGGKEQGQPFQGGQLS GLYYNGLKVLNMAAENDANIAIVGNVRLVGEVPSSMTTESTAT AMQSEMSTSIMETTTTTLATSTARRGKPPTKEPISQTTDDILVASA ECPDDEDEDIDPCEPSSGGLANPTRAGGREPYPGSAEVIRESSSTTG MVVGIVAAAALCILILLYAMYKYRNRDEGSYHVDESRNYISNS AQSN GAVVKEKQPSSAKSSNKNKKNKDKEYYV
异型体 3b (UniProt 标识符: P58400-1) (SEQ ID NO: 109)	MYQRMLRCGAELGSPGGGGGGGGGGGAGGRLALLWIVPLTLS GLLGVAWGASSLGAHHIHHFHGSSKHHSVPIAIYRSPASLRGGH AGTTYIFSKGGGQITYKWPPNDRPSTRADRLAIGFSTVQKEAVL VRVDSSSGLGDYLELHHQKGKIGVKFNVTDDIAIEESNAIINDG KYHVVRFRTRSGGNATLQVDSWPVIERYPAGRQLTIFNSQATIIIG GKEQGQPFQGGQLSGLYYNGLKVLNMAAENDANIAIVGNVRLV GEVPSSMTTESTATAMQSEMSTSIMETTTTTLATSTARRGKPPTK EPISQTTDDILVASAECPSDDEDEDIDPCEPSSGGLANPTRAGGREPY PGSAEVIRESSSTTGMVVGIVAAAALCILILLYAMYKYRNRDEG SYHVDESRNYISNSAQSN GAVVKEKQPSSAKSSNKNKKNKDKE YYV

[0219] 如本文所用,术语“NRXN1”包括由细胞天然表达的NRXN1的任何变体或异型体。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRXN1异型体1a的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRXN1异型体2a的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRXN1异型体3a的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRXN1异型体4a的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRXN1异型体1b的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRXN1异型体3b的表达。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可增加NRXN1异型体1a、NRXN1异型体2a、NRXN1异型体3a、NRXN1异型体4a、NRXN1异型体1b和NRXN1异型体3b的表达。除非另外指示,否则NRXN1的上述异型体在本文中统称为“NRXN1”。

[0220] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂使NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的表达与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应受试者中NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的表达)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%或至少约300%。

[0221] 不受任一种理论的束缚,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂通过降低miR-485(例如miR-485-3p)的表达和/或活性来增加NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的表达。

[0222] 如本文所述,本公开的miR-485抑制剂在施用于受试者时可增加NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的表达。因此,在一些方面,本公开提供了一种治疗有需要的受试者中与NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的异常(例如,降低)水平相关的疾病或疾患的方法。在一些方面,与NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的异常(例如,降低的)水平相关的疾病或疾患是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。在某些方面,所述方法包括向所述受试者施用抑制miR-485活性的化合物

(即,miR-485抑制剂),其中所述miR-485抑制剂增加NRXN1蛋白和/或NRXN1基因的水平。

[0223] 如从本公开中将显而易见的,与异常(例如,降低的)SIRT1蛋白和/或SIRT1基因水平相关的任何疾病或疾患都可用本公开治疗。在一些方面,本公开可用于治疗与异常(例如,降低的)CD36蛋白和/或CD36基因水平相关的任何疾病或疾患。在一些方面,本公开还可用于治疗与异常(例如,降低的)PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因水平相关的疾病或疾患。在一些方面,本公开还可用于治疗与异常(例如,降低的)NRG1蛋白和/或NRG1基因水平相关的疾病或疾患。在一些方面,本公开还可用于治疗与异常(例如,降低的)STMN2蛋白和/或STMN2基因水平相关的疾病或疾患。在一些方面,本公开还可用于治疗与异常(例如,降低的)NRXN1蛋白和/或NRXN1基因水平相关的疾病或疾患。

[0224] 在一些方面,与此类蛋白质和/或基因的异常(例如,降低的)水平相关的疾病或疾患是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。在一些方面,与此类蛋白质和/或基因的异常(例如,降低的)水平相关的疾病或疾患不是选自以下的疾病或疾患:阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、自闭症谱系障碍、智力迟钝、癫痫发作、中风、脊髓损伤或它们的任何组合。

[0225] 在一些方面,可用本公开治疗的ALS包括散发性ALS、家族性ALS或两者。如本文所用,术语“散发性”ALS是指与任何ALS发生家族史无关的ALS。大约90%或更多的ALS诊断是针对散发性ALS。如本文所用,术语“家族性”ALS是指在家族中发生不止一次的ALS,表明所述疾病的遗传成分。在一些方面,可用本发明治疗的ALS包括原发性侧索硬化症(PLS)。PLS可影响手臂和腿部的上运动神经元。然而,超过75%的患有明显PLS的患者在症状发作后四年内出现下运动神经元体征,这意味着在此之前无法对PLS做出明确诊断。PLS的预后比经典ALS好,因为它进展较慢,导致较少功能衰退,不会影响呼吸能力,并且导致较少体重减轻。在一些方面,ALS包括进行性肌肉萎缩症(PMA)。PMA可影响手臂和腿部的下运动神经元。与经典ALS相比,虽然PMA与平均更长存活时间相关,但随时间推移,它仍进展至其它脊髓区域,最终导致呼吸衰竭和死亡。上运动神经元体征可在PMA病程后期出现,在这种情况下,诊断可能改变为经典ALS。

[0226] 在一些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂可改善与异常(例如,降低的)SIRT1蛋白和/或SIRT1基因水平相关的疾病或疾患的一种或多种症状。在一些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂可改善与异常(例如,降低的)CD36蛋白和/或CD36基因水平相关的疾病或疾患的一种或多种症状。在一些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂可改善与异常(例如,降低的)PGC1- α 蛋白和/或PGC1- α 基因水平相关的疾病或疾患的一种或多种症状。在一些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂可改善与异常(例如,降低的)NRG1蛋白和/或NRG1基因水平相关的疾病或疾患的一种或多种症状。在一些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂可改善与异常(例如,降低的)STMN2蛋白和/或STMN2基因水平相关的疾病或疾患的一种或多种症状。在一些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂可改善与异常(例如,降低的)NRXN1蛋白和/或NRXN1基因水平相关的疾病或疾患的一种或多种症状。此类症状的非限制性实例在下文描述。

[0227] 如本文所述,与SIRT1、CD36、PGC1- α 、NRG1、STMN2和/或NRXN1的异常表达相关的疾病或病症是肌萎缩性侧索硬化症(ALS)。因此,在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可改善与ALS相关的一种或多种症状。症状的非限制性实例包括:行走或进行正常日常活动困难;绊倒和跌倒;四肢无力;言语不清;吞咽困难;肌肉痉挛和抽搐;不恰当的哭、笑或打哈

欠;痴呆;认知和行为变化;以及它们的组合。

[0228] 在一些方面,向受试者施用miR-485抑制剂可增加受试者(例如,患有ALS)的一个或多个肢体的物理强度。例如,在一些方面,与参考(例如,在施用之前受试者中的相应值)相比,受试者抓住物体(例如,悬丝或杆)持续延长的时间段的能力增加。在一些方面,受试者可抓住物体(例如,悬丝或杆)的时间段与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。

[0229] 在一些方面,与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的相应个体中的疾病发作)相比,向受试者施用本文公开的miR-485抑制剂可延迟疾病发作。在一些方面,与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比,ALS的疾病发作延迟至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。在一些方面,与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比,ALS的疾病发作延迟至少约10天、至少约20天、至少约30天、至少约40天、至少约50天、至少约60天、至少约70天、至少约80天、至少约90天、至少约100天、至少约150天、至少约200天、至少约250天、至少约1年、至少约2年、至少约3年、至少约4年或至少约5年或更长时间。

[0230] 在一些方面,与参考(例如,施用前受试者中的认知症状)相比,向受试者施用miR-485抑制剂可改善受试者(患有ALS)中的一种或多种认知症状。

[0231] 施用本公开的miR-485抑制剂可使受试者中ALS的一种或多种症状(例如,绊倒、难以用手握住物品、口齿不清、吞咽问题、肌肉痉挛、姿势恶化、难以抬起头、肌肉僵硬或它们的任何组合)的发生或发生风险与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比降低至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%。

[0232] 在一些方面,施用本公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中清除细胞(例如,神经胶质细胞)的吞噬活性与参考(例如,施用前所述受试者中的吞噬活性)相比增加(例如,通过增加CD36蛋白和/或CD36基因的表达)。在一些方面,施用本公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中神经元的树突棘密度与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。

[0233] 在一些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的神经发生与参考(例如,施用前所述受试者中的神经发生)相比增加(例如,通过增加CD36蛋白和/或CD36基因的表达)。如本文所用,术语“神经发生”是指产生神经元的过程。神经发生涵盖神经干细胞和祖细胞的增殖,这些细胞分化成新的神经细胞类型,以及新细胞的迁移和

存活。所述术语意图涵盖在正常发育过程中发生的神经发生,主要是在产前和围产期发育过程中;以及在疾病、损伤或治疗干预后发生的神经细胞再生。成人神经发生也称为“神经”或“神经”再生。在一些方面,施用本公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的神经发生与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。

[0234] 在一些方面,增加和/或诱导神经发生与神经干细胞和/或祖细胞的增殖、分化、迁移和/或存活增加相关。因此,在一些方面,施用本公开的miR-485抑制剂可增加受试者中神经干细胞和/或祖细胞的增殖。在某些方面,与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比,神经干细胞和/或祖细胞的增殖增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。在一些方面,与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比,神经干细胞和/或祖细胞的存活增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。

[0235] 在一些方面,增加和/或诱导神经发生与神经干细胞和/或祖细胞的数量增加相关。在某些方面,与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比,神经干细胞和/或祖细胞的数量增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。

[0236] 在一些方面,增加和/或诱导神经发生与增加的轴突、树突和/或突触发育相关。在某些方面,与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比,轴突、树突和/或突触发育增加至少约5%、至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少约80%、至少约90%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。

[0237] 在一些方面,施用本公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的神经炎症与参考(例如,施用前所述受试者中的神经炎症)相比减少(例如,通过增加SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达)。在某些方面,施用miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的神经炎症与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比减少至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%或约100%。在一些方面,神经炎症减少包括神经胶质细胞产生减少量的炎症介质。因此,在某些方面,向受试者(例如,患有ALS)施用本文公开的miR-485抑制剂使由神经胶质细胞产生的炎症介质的量与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比减少至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%

或约100%。在一些方面,由神经胶质细胞产生的炎症介质包括TNF- α 。在一些方面,炎症介质包括IL-1 β 。在一些方面,由神经胶质细胞产生的炎症介质包括TNF- α 和IL-1 β 两者。

[0238] 在一些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的自噬增加(例如,通过增加SIRT1蛋白和/或SIRT1基因的表达)。如本文所用,术语“自噬”是指细胞应激反应和负责降解长寿命蛋白质、蛋白质聚集体以及受损细胞器以维持细胞稳态的存活途径。在一些方面,向受试者(例如,患有ALS)施用本文公开的miR-485抑制剂使自噬与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比增加至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约100%、至少约150%、至少约200%或至少约300%或更多。

[0239] 如本领域已知的和本文描述的,ALS患者表现出某些运动和/或非运动症状。例如,与ALS相关的运动症状的非限制性实例包括肌肉无力(例如,腿无力、难以抓握笔或杯子、难以将手臂举过头顶、用手或手指进行精细运动时笨拙、呼吸困难)、肌肉萎缩、肌束震颤(即,肌肉的短暂、自发、不受控制的抽搐)、痉挛(即,肌肉长时间、无法控制的收缩,从而导致紧张和僵硬)、构音障碍(即,由于无法移动口腔和面部肌肉所致的言语缓慢、不清)、吞咽困难(即,无法吞咽)以及它们的组合。与ALS相关的非运动症状的非限制性实例包括认知障碍、假性延髓效应(PBA)(即,在社交场合中似乎不适当的哭或笑的不自主和无法控制的发作)或两者。

[0240] 在一些方面,施用本公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的一种或多种运动症状与参考(例如,施用前所述受试者中的相应运动症状)相比改善。在某些方面,施用本公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的一种或多种运动症状与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比改善至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。

[0241] 在一些方面,施用本公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的一种或多种非运动症状与参考(例如,施用前所述受试者中的相应非运动症状)相比改善。在某些方面,施用本文公开的miR-485抑制剂使受试者(例如,患有ALS)中的一种或多种非运动症状与参考(例如,未接受miR-485抑制剂施用的受试者)相比改善至少约5%、至少约10%、至少约15%、至少约20%、至少约25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约100%、至少约150%、至少约200%、至少约250%或至少约300%或更多。

[0242] 在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂可通过本领域已知的任何合适的途径施用。在某些方面,miR-485抑制剂通过胃肠外、肌肉、皮下、眼部、静脉内、腹膜内、皮内、眶内、脑内、颅内、脑室内、脊柱内、心室内、鞘内、脑池内、囊内、肿瘤内或它们的任何组合施用。在某些方面,脑室内(ICV)施用miR-485抑制剂。在某些方面,静脉内施用miR-485抑制剂。

[0243] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂可与一种或多种另外的治疗剂组合使用。在一些方面,同时施用另外的治疗剂和miR-485抑制剂。在某些方面,依序施用另外的治疗剂和miR-485抑制剂。

[0244] 在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂的施用不会导致任何副作用。在某些方面,本公开的miR-485抑制剂在施用于受试者时不会不利地影响体重。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂在施用于受试者时不会导致死亡率增加或引起病理性异常。

[0245] III. 可用于本公开的miRNA-485抑制剂

[0246] 本文公开了能够抑制miR-485活性的化合物(miR-485抑制剂)。在一些方面,本公开的miR-485抑制剂包含编码核苷酸分子的核苷酸序列,所述核苷酸分子包含至少一个miR-485结合位点,其中所述核苷酸分子不编码蛋白质。如本文所述,在一些方面,miR-485结合位点与靶miRNA核酸序列(即,miR-485)至少部分互补,使得miR-485抑制剂与miR-485核酸序列杂交。

[0247] 在一些方面,本文公开的miR抑制剂的miR-485结合位点与miR-485的核酸序列具有至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%序列互补性。在某些方面,miR-485结合位点与miR-485的核酸序列完全互补。

[0248] miR-485发夹前体可产生miR-485-5p和miR-485-3p。在本公开的上下文中,“miR-485”涵盖miR-485-5p和miR-485-3p两者,除非另外说明。人成熟miR-485-3p具有序列5'-GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU-3'(SEQ ID NO:1;miRBase登录号MIMAT0002176)。miR-485-3p的5'末端子序列5'-UCAUACA-3'(SEQ ID NO:49)是种子序列。人成熟miR-485-5p具有序列5'-AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC-3'(SEQ ID NO:33;miRBase登录号MIMAT0002175)。miR-485-5p的5'末端子序列5'-GAGGCUG-3'(SEQ ID NO:50)是种子序列。

[0249] 如本领域技术人员显而易见的,人成熟miR-485-3p与其它物种具有显著序列相似性。例如,小鼠成熟miR-485-3p与人成熟miR-485-3p的不同之处在于5'端和3'端各自的单个氨基酸(即,在5'端具有额外“A”并且在3'端缺失“C”)。小鼠成熟miR-485-3p具有以下序列:5'-AGUCAUACACGGCUCUCCUCUC-3'(SEQ ID NO:34;miRBase登录号MIMAT0003129;下划线部分对应于与人成熟miR-485-3p的重叠)。小鼠成熟miR-485-5p的序列与人的序列同一:5'-agaggcuggccgugaugaauuc-3'(SEQ ID NO:33;miRBase登录号MIMAT0003128)。由于序列的相似性,在一些方面,本公开的miR-485抑制剂能够结合来自一种或多种物种的miR-485-3p和/或miR-485-5p。在某些方面,本文公开的miR-485抑制剂能够结合来自人和小鼠两者的miR-485-3p和/或miR-485-5p。

[0250] 在一些方面,miR-485结合位点是与miR-485-3p的序列(或其子序列)互补(例如,完全互补)的单链多核苷酸序列。在一些方面,miR-485-3p子序列包含种子序列。因此,在某些方面,miR-485结合位点与SEQ ID NO:49中所示的核酸序列具有至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%序列互补性。在某些方面,miR-485结合位点与miR-485-3p互补,除了1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个错配。在其它方面,miR-485结合位点与SEQ ID NO:1中所示的核酸序列完全互补。

[0251] 在一些方面,miR-485结合位点是与miR-485-5p的序列(或其子序列)互补(例如,完全互补)的单链多核苷酸序列。在一些方面,miR-485-5p子序列包含种子序列。在某些方面,miR-485结合位点与SEQ ID NO:50中所示的核酸序列具有至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%序列互补性。在某些方面,miR-485结合位点与miR-485-5p互补,除了1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个错配。在其它方面,miR-485结合位点与SEQ ID NO:35中所示的核酸序列完全互补。

[0252] miRNA的种子区域与靶mRNA形成紧密双链体。大多数miRNA与靶mRNA的3'非翻译区(UTR)不完全碱基配对,而miRNA的5'近端“种子”区域提供大部分配对特异性。不受任何理论束缚,据信前九个miRNA核苷酸(涵盖种子序列)提供更大的特异性,而此区域3'的miRNA核糖核苷酸允许较低的序列特异性并因此耐受较高程度的错配碱基配对,其中位置2-7是最重要的。因此,在本公开的特定方面,miR-485结合位点包含在miR-485的种子序列的整个长度上完全互补(即,100%互补)的子序列。

[0253] 可用于本公开上下文中的miRNA序列和miRNA结合序列包括但不限于本文提供的序列表中的那些序列的全部或部分,以及miRNA前体序列或这些miRNA中的一者或多者的互补序列。根据名称涉及特定miRNA或miRNA结合位点的本公开的任何方面也预期涵盖miRNA或其互补序列,其序列与指定miRNA序列的成熟序列或互补序列至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约71%、至少约72%、至少约73%、至少约74%、至少约75%、至少约76%、至少约77%、至少约78%、至少约79%、至少约80%、至少约81%、至少约82%、至少约83%、至少约84%、至少约85%、至少约86%、至少约87%、至少约88%、至少约89%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同一。

[0254] 在一些方面,本公开的miRNA结合序列可在本文提供的序列表中的那些序列的5'端、3'端或5'端和3'端两者处包含额外的核苷酸,只要经修饰的序列仍然能够与miR-485特异性结合。在一些方面,本公开的miRNA结合序列相对于所提供的序列表中的那些序列可在至少1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多个核苷酸上不同,只要经修饰的序列仍然能够与miR-485特异性结合。

[0255] 还特别考虑到本文关于miRNA结合分子或miRNA论述的任何方法和组合物可关于合成miRNA结合分子实施。还应理解,本公开中涉及RNA序列的公开内容同样适用于相应的DNA序列。

[0256] 在一些方面,本公开的miRNA-485抑制剂在所述核苷酸序列的5'包含至少1个核苷酸、至少2个核苷酸、至少3个核苷酸、至少4个核苷酸、至少5个核苷酸、至少6个核苷酸、至少7个核苷酸、至少8个核苷酸、至少9个核苷酸、至少10个核苷酸、至少11个核苷酸、至少12个核苷酸、至少13个核苷酸、至少14个核苷酸、至少15个核苷酸、至少16个核苷酸、至少17个核苷酸、至少18个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸。在一些方面,miRNA-485抑制剂在所述核苷酸序列的3'包含至少1个核苷酸、至少2个核苷酸、至少3个核苷酸、至少4个核苷酸、至少5个核苷酸、至少6个核苷酸、至少7个核苷酸、至少8个核苷酸、至少9个核苷酸、至少10个核苷酸、至少11个核苷酸、至少12个核苷酸、至少13个核苷酸、至少14个核苷酸、至少15个核苷酸、至少16个核苷酸、至少17个核苷酸、至少18个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20

个核苷酸。

[0257] 在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂的长度是约6至约30个核苷酸。在某些方面,本文公开的miR-485抑制剂的长度是7个核苷酸。在其它方面,本文公开的miR-485抑制剂的长度是8个核苷酸。在一些方面,miR-485抑制剂的长度是9个核苷酸。在一些方面,本公开的miR-485抑制剂的长度是10个核苷酸。在某些方面,miR-485抑制剂的长度是11个核苷酸。在其它方面,miR-485抑制剂的长度是12个核苷酸。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂的长度是13个核苷酸。在某些方面,本文公开的miR-485抑制剂的长度是14个核苷酸。在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂的长度是15个核苷酸。在其它方面,miR-485抑制剂的长度是16个核苷酸。在某些方面,本公开的miR-485抑制剂的长度是17个核苷酸。在一些方面,miR-485抑制剂的长度是18个核苷酸。在一些方面,miR-485抑制剂的长度是19个核苷酸。在某些方面,miR-485抑制剂的长度是20个核苷酸。在其它方面,本公开的miR-485抑制剂的长度是21个核苷酸。在一些方面,miR-485抑制剂的长度是22个核苷酸。

[0258] 在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂包含与选自SEQ ID NO:2至30的序列至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或约100%同一的核苷酸序列。在某些方面,miR-485抑制剂包含选自由SEQ ID NO:2至30组成的组的核苷酸序列,其中所述核苷酸序列可任选地包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个错配。

[0259] 在一些方面,miRNA抑制剂包含5'-UGUAUGA-3'(SEQ ID NO:2)、5'-GUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:3)、5'-CGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:4)、5'-CCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:5)、5'-GCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:6)、5'-AGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:7)、5'-GAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:8)、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:9)、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:10)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:11)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:12)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:13)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:14)或5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'(SEQ ID NO:15)。

[0260] 在一些方面,miRNA抑制剂具有5'-UGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:16)、5'-GUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:17)、5'-CGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:18)、5'-CCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:19)、5'-GCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:20)、5'-AGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:21)、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:22)、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:23)、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:24)、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:25)、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:26)、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:27)、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:28)、5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:29)或AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC(SEQ ID NO:30)。

[0261] 在一些方面,所述miRNA抑制剂具有选自由以下组成的组的序列:5'-TGTATGA-3'(SEQ ID NO:62)、5'-GTGTATGA-3'(SEQ ID NO:63)、5'-CGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:64)、5'-CCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:65)、5'-GCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:66)、5'-AGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:67)、5'-GAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:68)、5'-AGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:69)、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:70)、5'-GGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:71)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:72)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:73)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:74)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGA-3'(SEQ ID NO:75)。

ID NO:75)、5'-TGTATGAC-3'(SEQ ID NO:76)、5'-GTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:77)、5'-CGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:78)、5'-CCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:79)、5'-GCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:80)、5'-AGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:81)、5'-GAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:82)、5'-AGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:83)、5'-GAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:84)、5'-GGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:85)、5'-AGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:86)、5'-GAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:87)、5'-AGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:88)、5'-GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:89)和5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90)。

[0262] 在一些方面,本文公开的miRNA抑制剂(即,miR-485抑制剂)包含与5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90)至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%或至少约95%同一的核苷酸序列。在一些方面,miRNA抑制剂包含与5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90)具有至少90%相似性的核苷酸序列。在一些方面,所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90),具有一个取代或两个取代。在某些方面,所述miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)或5'-AGAGAGGAGAGCCGTGTATGAC-3'(SEQ ID NO:90)。在某些方面,miRNA抑制剂包含核苷酸序列5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:30)。

[0263] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂包含本文公开的序列,例如SEQ ID NO:2至30中的任一个,以及在N末端的至少一个、至少两个、至少三个、至少四个或至少五个额外核酸,在C末端的至少一个、至少两个、至少三个、至少四个或至少五个额外核酸,或两者。在一些方面,本公开的miR-485抑制剂包含本文公开的序列,例如SEQ ID NO:2至30中的任一个,以及在N末端的一种额外核酸和/或在C末端的一个额外核酸。在一些方面,本公开的miR-485抑制剂包含本文公开的序列,例如SEQ ID NO:2至30中的任一个,以及在N末端的一个或两个额外核酸和/或在C末端的一个或两个额外核酸。在一些方面,本公开的miR-485抑制剂包含本文公开的序列,例如SEQ ID NO:2至30中的任一个,以及在N末端的一至三个额外核酸和/或在C末端的一至三个额外核酸。在一些方面,miR-485抑制剂包含5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'(SEQ ID NO:29)。

[0264] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂包含一个miR-485结合位点。在其它方面,本文公开的miR-485抑制剂包含至少两个miR-485结合位点。在某些方面,miR-485抑制剂包含三个miR-485结合位点。在一些方面,miR-485抑制剂包含四个miR-485结合位点。在一些方面,miR-485抑制剂包含五个miR-485结合位点。在某些方面,miR-485抑制剂包含六个或更多个miR-485结合位点。在一些方面,所有的miR-485结合位点是相同的。在一些方面,所有的miR-485结合位点是不同的。在一些方面,至少一个miR-485结合位点是不同的。在一些方面,所有的miR-485结合位点都是miR-485-3p结合位点。在其它方面,所有的miR-485结合位点都是miR-485-5p结合位点。在其它方面,miR-485抑制剂包含至少一个miR-485-3p结合位点和至少一个miR-485-5p结合位点。

[0265] III.a.经化学修饰的多核苷酸

[0266] 在一些方面,本文公开的miR-485抑制剂包含多核苷酸,所述多核苷酸包含至少一个经化学修饰的核苷和/或核苷酸。当本公开的多核苷酸经化学修饰时,所述多核苷酸可被称为“经修饰的多核苷酸”。

[0267] “核苷”是指含有糖分子(例如戊糖或核糖)或其衍生物与有机碱基(例如嘌呤或嘧啶)或其衍生物(在本文中也称为“核碱基”)组合的化合物。“核苷酸”是指包含磷酸酯基团的核苷。经修饰的核苷酸可通过任何有用的方法,例如像化学、酶促或重组地合成,以包括一个或多个经修饰的或非天然的核苷。

[0268] 多核苷酸可包含连接的核苷的一个或多个区。此类区可具有可变主链连键。连键可以是标准磷酸二酯连键,在这种情况下多核苷酸将包含核苷酸的区。

[0269] 本文公开的经修饰的多核苷酸可包含各种不同的修饰。在一些方面,经修饰的多核苷酸含有一种、两种或更多种(任选不同的)核苷或核苷酸修饰。在一些方面,经修饰的多核苷酸可表现出一种或多种合乎需要的性质,例如,与未修饰的多核苷酸相比改进的热稳定性或化学稳定性、降低的免疫原性、降低的降解、与靶微RNA的结合增加、与其它微小RNA或其它分子的非特异性结合降低。

[0270] 在一些方面,本公开的多核苷酸(例如,miR-485抑制剂)经化学修饰。如本文所用,关于多核苷酸,术语“化学修饰”或适当时“经化学修饰的”是指相对于腺苷(A)、鸟苷(G)、尿苷(U)、胸苷(T)或胞苷(C)核糖核苷或脱氧核糖核苷在它们的位置、模式、百分比或群体中的一个或多个方面(包括但不限于其核碱基、糖、主链或它们的任何组合)的修饰。

[0271] 在一些方面,本公开的多核苷酸(例如,miR-485抑制剂)可具有全部或任何同一核苷类型的均一化学修饰,或通过在全部分或任何同一核苷类型中的相同起始修饰的向下滴定而产生的修饰群体,或全部或任何同一核苷类型的测量百分比的化学修饰但伴有随机并入。在其它方面,本公开的多核苷酸(例如,miR-485抑制剂)可在整个多核苷酸中具有两种、三种或四种同一核苷类型的均一化学修饰(如所有尿苷和所有胞嘧啶等以相同方式修饰)。

[0272] 修饰的核苷酸碱基配对不仅涵盖标准腺嘌呤-胸腺嘧啶、腺嘌呤-尿嘧啶或鸟嘌呤-胞嘧啶碱基对,而且涵盖在核苷酸和/或包含非标准或修饰的碱基的修饰的核苷酸之间形成的碱基对,其中氢键供体和氢键受体的排列允许非标准碱基与标准碱基之间或两个互补的非标准碱基结构之间的氢键合。这种非标准碱基配对的一个实例是经修饰的核碱基肌苷与腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶之间的碱基配对。碱/糖或接头的任何组合可并入本公开的多核苷酸中。

[0273] 本领域技术人员将理解,除非另有说明,否则本申请中列出的多核苷酸序列将在代表性DNA序列中列举“T”,但是当序列代表RNA时,“T”将被取代为“U”。例如,本公开的TD可作为RNA、作为DNA或作为包含RNA和DNA单元两者的杂合分子施用。

[0274] 在一些方面,多核苷酸(例如,miR-485抑制剂)包含至少两个(例如,2、3、4、5、6、7、8、8、10、11、12、13、14、15、16、17、18、18、20个或更多个)经修饰的核碱基的组合。

[0275] 在一些方面,多核苷酸中的核碱基、糖、主链连键或它们的任何组合被修饰至少约5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%。

[0276] (i) 碱基修饰

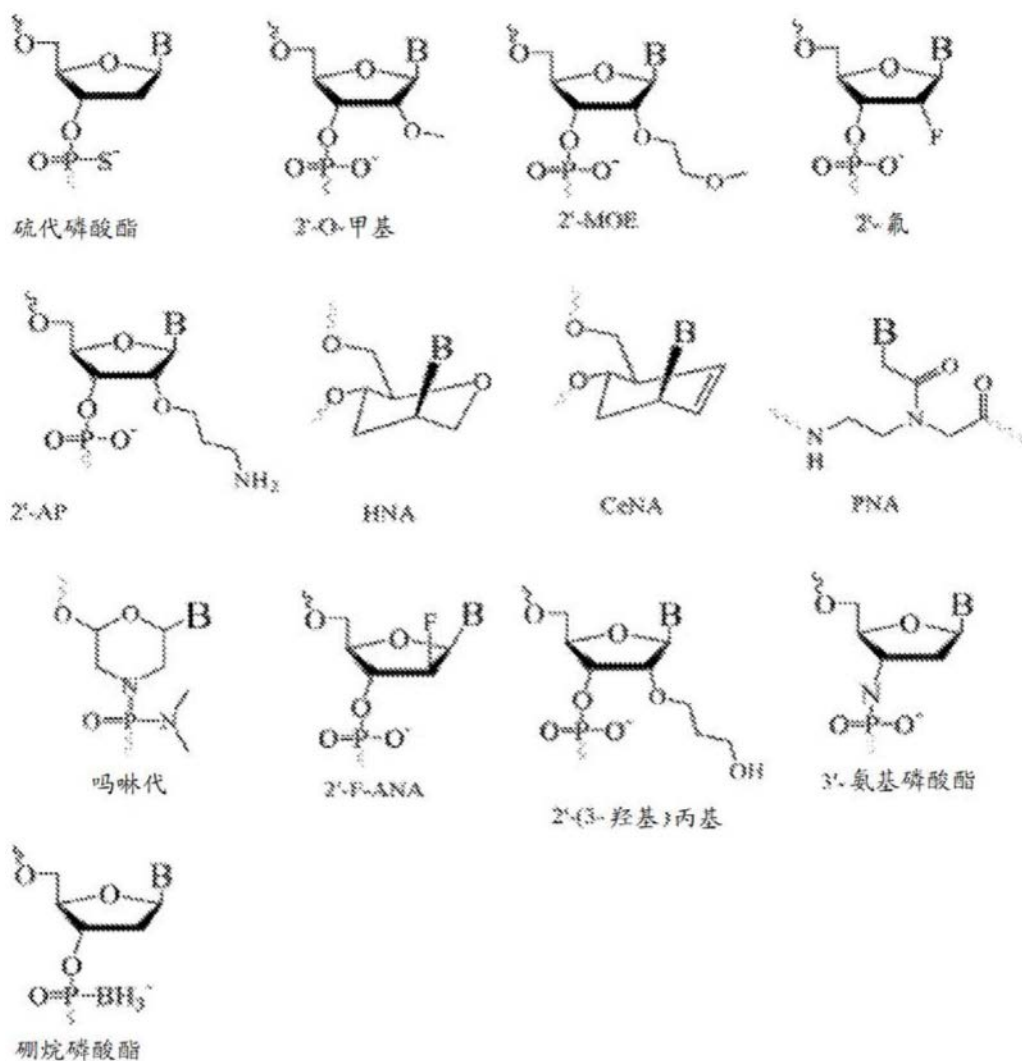
[0277] 在某些方面,化学修饰在本公开的多核苷酸(例如,miR-485抑制剂)中的核碱基处。在一些方面,至少一个经化学修饰的核苷是经修饰的尿苷(例如,假尿苷(ψ)、2-硫尿苷(s2U)、1-甲基-假尿苷(m1 ψ)、1-乙基-假尿苷(e1 ψ)或5-甲氧基-尿苷(mo5U))、经修饰的胞嘧啶(例如,5-甲基-胞苷(m5C))、经修饰的腺苷(例如,1-甲基-腺苷(m1A)、N6-甲基-腺苷(m6A)或2-甲基-腺嘌呤(m2A))、经修饰的鸟苷(例如,7-甲基-鸟苷(m7G)或1-甲基-鸟苷(m1G))或它们的组合。

[0278] 在一些方面,对于特定修饰,对本公开的多核苷酸(例如,miR-485抑制剂)进行均一修饰(例如,完全修饰,在整个序列中修饰)。例如,可用统一类型的碱基修饰,例如5-甲基-胞苷(m5C)均一修饰多核苷酸,这意味着多核苷酸序列中的所有胞嘧啶残基都被5-甲基-胞苷(m5C)置换。类似地,可通过用经修饰的核苷(如以上列出的那些中的任一者)置换针对序列中存在的任何类型的核苷残基均一地修饰多核苷酸。

[0279] 在一些方面,本公开的多核苷酸(例如,miR-485抑制剂)包含至少两个(例如,2、3、4个或更多个)经修饰的核碱基的组合。在一些方面,本公开的多核苷酸(例如,miR-485抑制剂)中至少约5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%的核碱基类型是经修饰的核碱基。

[0280] (ii) 主链修饰

[0281] 在一些方面,本公开的多核苷酸(即,miR-485抑制剂)可包含核苷之间的任何有用的连键。可用于本公开的组合物中的此类连键(包括主链修饰)包括但不限于以下:3'-亚烷基膦酸酯、3'-氨基氨基磷酸酯、含烯烃的主链、氨基烷基氨基磷酸酯、氨基烷基磷酸三酯、硼烷磷酸酯、 $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、手性膦酸酯、手性硫代磷酸酯、甲酰基和硫代甲酰基主链、亚甲基(甲基亚氨基)、亚甲基甲酰基和硫代甲酰基主链、亚甲基亚氨基和亚甲基胍基主链、吗啉代连键、 $-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、具有杂原子核苷间连键的寡核苷、次膦酸酯、氨基磷酸酯、二硫代磷酸酯、硫代磷酸酯核苷间连键、硫代磷酸酯、磷酸三酯、PNA、硅氧烷主链、氨基磺酸酯主链、硫化亚砷和砷主链、磺酸酯和磺酰胺主链、硫羰基烷基膦酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯以及硫羰基氨基磷酸酯。



[0282]

[0283] 在一些方面,以上公开的主链连键的存在增加本公开的多核苷酸(即,miR-485抑制剂)的稳定性和对降解的抗性。

[0284] 在一些方面,本公开的多核苷酸(即,miR-485抑制剂)中至少约5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%的主链连键经修饰(例如,它们全部是硫代磷酸酯)。

[0285] 在一些方面,可包含在本公开的多核苷酸(即,miR-485抑制剂)中的主链修饰包括二氨基磷酸酯吗啉代低聚物(PMO)和/或硫代磷酸酯(PS)修饰。

[0286] (iii) 糖修饰

[0287] 可并入本公开的多核苷酸(即,miR-485抑制剂)中的经修饰的核苷和核苷酸可在核酸的糖上进行修饰。在一些方面,糖修饰增加miR-485抑制剂与miR-485核酸序列结合的亲和力。在miR-485抑制剂中并入增强亲和力的核苷酸类似物(如LNA或2'-取代的糖)可减小miR-485抑制剂的长度和/或大小。

[0288] 在一些方面,本公开的多核苷酸(即,miR-485抑制剂)中至少约5%、至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少约30%、至少约35%、至少约40%、至少约45%、至少约

50%、至少约55%、至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%、至少约99%或100%的核苷酸含有糖修饰(例如,LNA)。

[0289] 在一些方面,本公开的多核苷酸中的1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个核苷酸单元是糖修饰的(例如,LNA)。

[0290] 一般来说,RNA包括糖基核糖,所述糖基核糖是具有氧的5元环。示例性、非限制性的修饰核苷酸包括核糖中的氧的置换(例如,用S、Se或亚烷基如亚甲基或亚乙基置换);添加双键(例如,以使用环戊烯基或环己烯基置换核糖);核糖的环缩反应(例如,以便形成环丁烷或环氧丙烷的4元环);核糖的扩环反应(例如,以便形成具有额外碳或杂原子的也具有氨基磷酸酯主链的6元或7元环,如对于失水己糖醇、阿卓糖醇、甘露醇、环己烷基、环己烯基以及吗啉代来说);多环形式(例如,三环;以及“非锁定”形式,如乙二醇核酸(GNA)(例如,R-GNA或S-GNA,其中核糖被连接至磷酸二酯键的乙二醇单元置换)、苏糖核酸(TNA,其中核糖被 α -L-苏型呋喃糖基-(3'→2')置换),和肽核酸(PNA,其中2-氨基-乙基-甘氨酸连键置换核糖和磷酸二酯主链)。糖基团还可含有一个或多个相比于核糖中相应碳的构型,具有相反立体化学构型的碳。因此,多核苷酸分子可包括含有例如阿拉伯糖作为糖的核苷酸。

[0291] 核糖的2'羟基(OH)可被多个不同的取代基修饰或置换。2'-位置处的示例性取代包括但不限于H、卤基、任选取代的 C_{1-6} 烷基;任选取代的 C_{1-6} 烷氧基;任选取代的 C_{6-10} 芳氧基;任选取代的 C_{3-8} 环烷基;任选取代的 C_{3-8} 环烷氧基;任选取代的 C_{6-10} 芳氧基;任选取代的 C_{6-10} 芳基- C_{1-6} 烷氧基,任选取代的 C_{1-12} (杂环基)氧基;糖(例如,核糖、戊糖或本文所述的任何糖);聚乙二醇(PEG), $-O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$,其中R是H或任选取代的烷基,并且n是0至20(例如,0至4、0至8、0至10、0至16、1至4、1至8、1至10、1至16、1至20、2至4、2至8、2至10、2至16、2至20、4至8、4至10、4至16以及4至20)的整数;“锁”核酸(LNA),其中2'-羟基通过 C_{1-6} 亚烷基或 C_{1-6} 亚杂烷基桥连接至同一核糖的4'-碳,其中示例性桥包括亚甲基、亚丙基、醚、氨基桥、氨基烷基、氨基烷氧基、氨基和氨基酸。

[0292] 在一些方面,本公开的多核苷酸(即,mir-485抑制剂)中存在的核苷酸类似物包含例如2'-O-烷基-RNA单元、2'-OMe-RNA单元、2'-O-烷基-SNA、2'-氨基-DNA单元、2'-氟-DNA单元、LNA单元、阿拉伯核酸(ANA)单元、2'-氟-ANA单元、HNA单元、INA(嵌入核酸)单元、2'-MOE单元或它们的任何组合。在一些方面,LNA是例如氧基-LNA(如 β -D-氧基-LNA或 α -L-氧基-LNA)、氨基-LNA(如 β -D-氨基-LNA或 α -L-氨基-LNA)、硫代-LNA(如 β -D-硫代O-LNA或 α -L-硫代-LNA)、ENA(如 β -D-ENA或 α -L-ENA)或它们的任何组合。在其它方面,可包含在本公开的多核苷酸(即,mir-485抑制剂)中的核苷酸类似物包括锁定核酸(LNA)、解锁核酸(UNA)、阿拉伯核酸(ABA)、桥联核酸(BNA)和/或肽核酸(PNA)。

[0293] 在一些方面,本公开的多核苷酸(即,mir-485抑制剂)可包含经修饰的RNA核苷酸类似物(例如,LNA)和DNA单元两者。在一些方面,mir-485抑制剂是缺口聚物(gapmer)。参见例如,美国专利号8,404,649;8,580,756;8,163,708;9,034,837;所述专利全部以引用的方式整体并入本文。在一些方面,mir-485抑制剂是micromir。参见美国专利申请公布号US20180201928,其以引用的方式整体并入本文。

[0294] 在一些方面,本公开的多核苷酸(即,mir-485抑制剂)可包含修饰以防止被核酸内切酶和核酸外切酶快速降解。修饰包括但不限于例如(a)末端修饰,例如5'端修饰(磷酸化、

去磷酸化、缀合、反向连接等)、3'端修饰(缀合、DNA核苷酸、反向连接等);(b) 碱基修饰,例如用修饰的碱基、稳定性碱基、去稳定性碱基或与扩增的配偶体库碱基配对的碱基、或缀合碱基置换;(c) 糖修饰(例如,在2'位置或4'位置)或糖的置换;以及(d) 核苷间连键修饰,包括磷酸二酯连键的修饰或置换。

[0295] IV. 载体和递送系统

[0296] 在一些方面,本公开的miR-485抑制剂可使用本领域已知的任何相关的递送系统施用于例如患有与异常(例如降低的)SIRT1蛋白和/或SIRT1基因水平相关的疾病或疾患的受试者。在某些方面,递送系统是载体。因此,在一些方面,本公开提供了包含本公开的miR-485抑制剂的载体。

[0297] 在一些方面,载体是病毒载体。在一些方面,病毒载体是腺病毒载体或腺相关病毒载体。在某些方面,病毒载体是具有血清型AAV2、AAV3、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10或它们的任何组合的AAV。在一些方面,腺病毒载体是第三代腺病毒载体。ADEASY™是迄今为止最流行的产生腺病毒载体构建体的方法。所述系统由两种类型的质粒组成:穿梭(或转移)载体和腺病毒载体。将目标转基因克隆到穿梭载体中,验证并用限制酶PmeI线性化。然后将此构建体转化到ADEASIER-1细胞中,所述细胞是含有PADEASY™的BJ5183大肠杆菌细胞。PADEASY™是含有病毒生产所必需的腺病毒基因的约33Kb的腺病毒质粒。穿梭载体和腺病毒质粒具有匹配的左和右同源臂,这有助于转基因同源重组到腺病毒质粒中。也可将具有超螺旋PADEASY™的标准BJ5183和穿梭载体共同转化,但这种方法导致非重组腺病毒质粒的背景较高。然后验证重组腺病毒质粒的大小和适当的限制性消化模式,以确定转基因已插入到腺病毒质粒中,并且没有发生其它重组模式。一旦验证,就将重组质粒用PacI线性化,以产生由ITR侧接的线性dsDNA构建体。将293或911细胞用线性化构建体转染,并且约7-10天后可收获病毒。除了这方法外,在提交本申请时本领域中已知的用于产生腺病毒载体构建体的其它方法可用于实践本文公开的方法。

[0298] 在一些方面,病毒载体是逆转录病毒载体,例如,慢病毒载体(例如,第三代或第四代慢病毒载体)。慢病毒载体通常在瞬时转染系统中产生,其中用三种单独的质粒表达系统转染细胞系。这些包括转移载体质粒(HIV原病毒的部分)、包装质粒或构建体以及具有不同病毒的异源包膜基因(env)的质粒。将载体的三种质粒组分放入包装细胞中,然后将所述包装细胞插入HIV外壳中。载体的病毒部分含有插入序列,因此病毒不能在细胞系统内复制。当前的第三代慢病毒载体仅编码九种HIV-1蛋白中的三种(Gag、Pol、Rev),它们从单独质粒中表达,以避免重组介导的有复制能力的病毒的产生。在第四代慢病毒载体中,逆转录病毒基因组被进一步减少(参见例如,**TAKARA®** LENTI-X™第四代包装系统)。

[0299] 本领域已知的任何AAV载体均可用于本文公开的方法中。AAV载体可包含已知载体或者可包含其变体、片段或融合物。在一些方面,AAV载体选自以下组成的组:AAV 1型(AAV1)、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、禽AAV、牛AAV、犬AAV、马AAV、山羊AAV、灵长类动物AAV、非灵长类动物AAV、牛AAV、虾AAV、蛇AAV以及它们的任何组合。

[0300] 在一些方面,AAV载体源自选自以下组成的组的AAV载体:AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、禽AAV、牛AAV、犬AAV、马AAV、山羊AAV、灵长类动物AAV、非灵长类动物AAV、绵羊AAV、虾AAV、蛇AAV以及

它们的任何组合。

[0301] 在一些方面, AAV载体是源自选自由以下组成的组的至少两种AAV载体的嵌合载体: AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、禽AAV、牛AAV、犬AAV、马AAV、山羊AAV、灵长类动物AAV、非灵长类动物AAV、绵羊AAV、虾AAV、蛇AAV以及它们的任何组合。

[0302] 在某些方面, AAV载体包含本领域已知的至少两种不同AAV载体的区域。

[0303] 在一些方面, AAV载体包含来自第一AAV (例如, AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、禽AAV、牛AAV、犬AAV、马AAV、山羊AAV、灵长类动物AAV、非灵长类动物AAV、绵羊AAV、虾AAV、蛇AAV或它们的任何衍生物) 的反向末端重复序列和来自第二AAV (例如, AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、禽AAV、牛AAV、犬AAV、马AAV、山羊AAV、灵长类动物AAV、非灵长类动物AAV、绵羊AAV、虾AAV、蛇AAV或它们的任何衍生物) 的第二反向末端重复序列。

[0304] 在一些方面, AAV载体包含选自由以下组成的组的AAV载体的一部分: AAV1、AAV2、AAV3A、AAV3B、AAV4、AAV5、AAV6、AAV7、AAV8、AAV9、AAV10、AAV11、AAV12、AAV13、AAVrh.74、禽AAV、牛AAV、犬AAV、马AAV、山羊AAV、灵长类动物AAV、非灵长类动物AAV、绵羊AAV、虾AAV、蛇AAV以及它们的任何组合。在一些方面, AAV载体包含AAV2。

[0305] 在一些方面, AAV载体包含剪接受体位点。在一些方面, AAV载体包含启动子。本领域已知的任何启动子均可用于本公开的AAV载体中。在一些方面, 启动子是RNA Pol III启动子。在一些方面, RNA Pol III启动子选自由以下组成的组: U6启动子、H1启动子、7SK启动子、5S启动子、腺病毒2 (Ad2) VAI启动子以及它们的任何组合。在一些方面, 启动子是巨细胞病毒立即早期基因 (CMV) 启动子、EF1a启动子、SV40启动子、PGK1启动子、Ubc启动子、人β肌动蛋白启动子、CAG启动子、TRE启动子、UAS启动子、Ac5启动子、多角体启动子、CaMKIIa启动子、GAL1启动子、GAL10启动子、TEF启动子、GDS启动子、ADH1启动子、CaMV35S启动子或Ubi启动子。在一个具体方面, 启动子包括U6启动子。

[0306] 在一些方面, AAV载体包含组成型活性启动子 (组成型启动子)。在一些方面, 组成型启动子选自由以下组成的组: 次黄嘌呤磷酸核糖基转移酶 (HPRT)、腺苷脱氨酶、丙酮酸激酶、β-肌动蛋白启动子、巨细胞病毒 (CMV)、猿病毒 (例如, SV40)、乳头瘤病毒、腺病毒、人免疫缺陷病毒 (HIV)、劳斯肉瘤病毒、逆转录病毒长末端重复序列 (LTR)、鼠干细胞病毒 (MSCV) 和单纯疱疹病毒的胸苷激酶启动子。

[0307] 在一些方面, 启动子是诱导型启动子。在一些方面, 诱导型启动子是组织特异性启动子。在某些方面, 组织特异性启动子驱动AAV载体的编码区在神经元、神经胶质细胞或在神经元和神经胶质细胞两者中的转录。

[0308] 在一些方面, AAV载体包含一个或多个增强子。在一些方面, 一个或多个增强子单独或与本文公开的启动子一起存在于AAV中。在一些方面, AAV载体包含3'UTR poly (A) 尾序列。在一些方面, 3'UTR poly (A) 尾序列选自由以下组成的组: bGH poly (A)、肌动蛋白poly (A)、血红蛋白poly (A) 以及它们的任何组合。在一些方面, 3'UTR poly (A) 尾序列包括bGH poly (A)。

[0309] 在一些方面, 本文公开的miR-485抑制剂与递送剂一起施用。可使用的递送剂的非

限制性实例包括类脂质、脂质体、脂质复合物、脂质纳米颗粒、聚合化合物、肽、蛋白质、细胞、纳米颗粒模拟物、纳米管、胶束或缀合物。

[0310] 因此,在一些方面,本公开还提供了包含本公开的miRNA抑制剂(即,miR-485抑制剂)和递送剂的组合物。在一些方面,所述递送剂包含阳离子载体单元,所述阳离子载体单元包含

[0311] [WP]-L1-[CC]-L2-[AM] (式I)

[0312] 或

[0313] [WP]-L1-[AM]-L2-[CC] (式II)

[0314] 其中

[0315] WP是水溶性生物聚合物部分;

[0316] CC是带正电荷的载体部分;

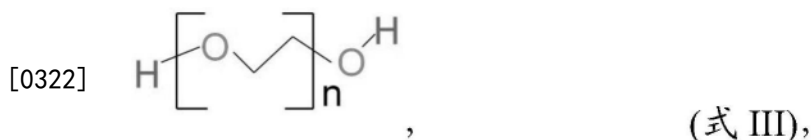
[0317] AM是佐剂部分;并且,

[0318] L1和L2独立地是任选的接头,并且

[0319] 其中当以约1:1的离子比率与核酸混合时,所述阳离子载体单元形成胶束。

[0320] 在一些方面,包含本公开的miRNA抑制剂(即,miR-485抑制剂)的组合物通过离子键与阳离子载体单元相互作用。

[0321] 在一些方面,所述水溶性聚合物包括聚(烷二醇)、聚(氧乙基化多元醇)、聚(烯烃醇)、聚(乙烯基吡咯烷酮)、聚(羟烷基甲基丙烯酰胺)、聚(甲基丙烯酸羟烷基酯)、聚(糖类)、聚(α -羟基酸)、聚(乙烯醇)、聚甘油、聚磷腈、聚噁唑啉(“POZ”)聚(N-丙烯酰吗啉)或它们的任何组合。在一些方面,所述水溶性聚合物包括聚乙二醇(“PEG”)、聚甘油或聚(丙二醇)(“PPG”)。在一些方面,所述水溶性聚合物包含:



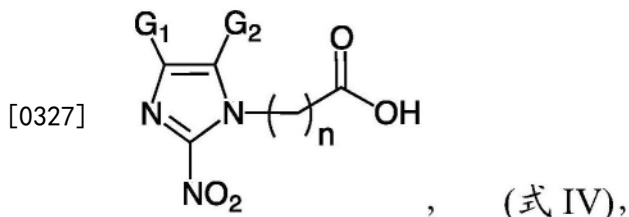
[0323] 其中n是1-1000。

[0324] 在一些方面,n是至少约110、至少约111、至少约112、至少约113、至少约114、至少约115、至少约116、至少约117、至少约118、至少约119、至少约120、至少约121、至少约122、至少约123、至少约124、至少约125、至少约126、至少约127、至少约128、至少约129、至少约130、至少约131、至少约132、至少约133、至少约134、至少约135、至少约136、至少约137、至少约138、至少约139、至少约140或至少约141。在一些方面,n是约80至约90、约90至约100、约100至约110、约110至约120、约120至约130、约140至约150、约150至约160。

[0325] 在一些方面,所述水溶性聚合物是直链的、支链的或树枝状的。在一些方面,所述阳离子载体部分包含一个或多个碱性氨基酸。在一些方面,所述阳离子载体部分包含至少三个、至少四个、至少五个、至少六个、至少七个、至少八个、至少九个、至少十个、至少11个、至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个、至少23个、至少24个、至少25个、至少26个、至少27个、至少28个、至少29个、至少30个、至少31个、至少32个、至少33个、至少34个、至少35个、至少36个、至少37个、至少38个、至少39个、至少40个、至少41个、至少42个、至少43个、至少44个、至少45个、至少46个、至少47个、至少48个、至少49个或至少50个碱性氨基酸。在一些方面,所述阳离子

载体部分包含约30至约50个碱性氨基酸。在一些方面,所述碱性氨基酸包括精氨酸、赖氨酸、组氨酸或它们的任何组合。在一些方面,所述阳离子载体部分包含约40个赖氨酸单体。

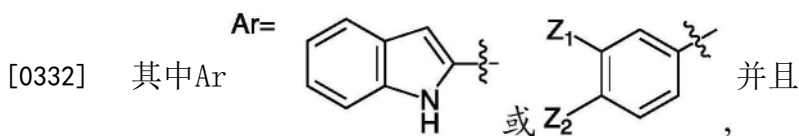
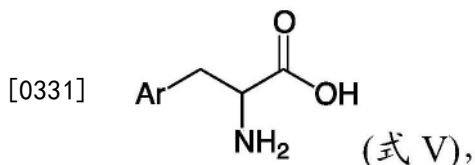
[0326] 在一些方面,所述佐剂部分能够调节免疫应答、炎症应答和/或组织微环境。在一些方面,所述佐剂部分包含咪唑衍生物、氨基酸、维生素或它们的任何组合。在一些方面,所述佐剂部分包含:



[0328] 其中G1和G2各自是H、芳族环或1-10烷基,或者G1和G2一起形成芳族环,并且其中n是1-10。

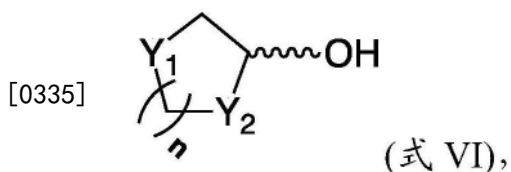
[0329] 在一些方面,所述佐剂部分包含硝基咪唑。在一些方面,所述佐剂部分包含甲硝唑、替硝唑、尼莫唑、地美硝唑、普瑞玛尼、奥硝唑、美格唑、阿扎硝唑、苜硝唑或它们的任何组合。在一些方面,所述佐剂部分包含氨基酸。

[0330] 在一些方面,所述佐剂部分包含



[0333] 其中Z1和Z2各自是H或OH。

[0334] 在一些方面,所述佐剂部分包含维生素。在一些方面,所述维生素包含环状环或环状杂原子环和羧基或羟基。在一些方面,所述维生素包含:



[0336] 其中Y1和Y2各自是C、N、O或S,并且其中n是1或2。

[0337] 在一些方面,所述维生素选自由以下组成的组:维生素A、维生素B1、维生素B2、维生素B3、维生素B6、维生素B7、维生素B9、维生素B12、维生素C、维生素D2、维生素D3、维生素E、维生素M、维生素H以及它们的任何组合。在一些方面,所述维生素是维生素B3。

[0338] 在一些方面,所述佐剂部分包含至少约两个、至少约三个、至少约四个、至少约五个、至少约六个、至少约七个、至少约八个、至少约九个、至少约十个、至少约11个、至少约12个、至少约13个、至少约14个、至少约15个、至少约16个、至少约17个、至少约18个、至少约19个或至少约20个维生素B3。在一些方面,所述佐剂部分包含约10个维生素B3。

[0339] 在一些方面,所述组合物包含具有约120至约130个PEG单元的水溶性生物聚合物

部分、包含具有约30至约40个赖氨酸的聚赖氨酸的阳离子载体部分和具有约5至约10个维生素B3的佐剂部分。

[0340] 在一些方面,所述组合物包含(i)具有约100至约200个PEG单元的水溶性生物聚合物部分;(ii)具有胺基团的约30至约40个赖氨酸(例如,约32个赖氨酸);(iii)约15至20个赖氨酸,各自具有硫醇基团(例如,约16个赖氨酸,各自具有硫醇基团);以及(iv)与维生素B3融合的约30至40个赖氨酸(例如,约32个赖氨酸,各自与维生素B3融合)。在一些方面,所述组合物还包含与水溶性聚合物连接的靶向部分,例如LAT1靶向配体,例如苯丙氨酸。在一些方面,所述组合物中的硫醇基团形成二硫键。

[0341] 在一些方面,所述组合物包含(1)胶束,所述胶束包含(i)约100至约200个PEG单元;(ii)具有胺基团的约30至约40个赖氨酸(例如,约32个赖氨酸);(iii)约15至20个赖氨酸,各自具有硫醇基团(例如,约16个赖氨酸,各自具有硫醇基团)和(iv)与维生素B3融合的约30至40个赖氨酸(例如,约32个赖氨酸,各自与维生素B3融合),以及(2)miR485抑制剂(例如,SEQ ID NO:30),其中所述miR485抑制剂被包封在所述胶束内。在一些方面,所述组合物还包含与PEG单元连接的靶向部分,例如LAT1靶向配体,例如苯丙氨酸。在一些方面,所述胶束中的硫醇基团形成二硫键。

[0342] 本公开还提供了包含本公开的miRNA抑制剂(即,miR-485抑制剂,例如,SEQ ID NO:30)的胶束,其中所述miRNA抑制剂和递送剂彼此缔合。

[0343] 在一些方面,所述缔合是共价键、非共价键或离子键。在一些方面,当在溶液中与本文公开的miR-485抑制剂混合时,阳离子载体单元的阳离子载体部分的正电荷足以形成胶束,其中所述溶液中阳离子载体单元的阳离子载体部分的正电荷与miR-485抑制剂(或包含所述抑制剂的载体)的负电荷的总离子比率是约1:1。

[0344] 在一些方面,阳离子载体单元能够保护本公开的miRNA抑制剂(即,miR-485抑制剂)免于酶促降解。参见2020年12月30日公布的PCT公布号WO2020/261227,所述公布以引用的方式整体并入本文。

[0345] V. 药物组合物

[0346] 在一些方面,本公开还提供了适合施用于受试者的包含本文公开的miR-485抑制剂(例如,包含miR-485抑制剂的多核苷酸或载体)的药物组合物。所述药物组合物通常包含本文所述的miR-485抑制剂(例如,多核苷酸或载体)和呈适合施用于受试者的形式的药学上可接受的赋形剂或载体。药学上可接受的赋形剂或载体部分地由所施用的特定组合物以及由用于施用组合物的特定方法决定。

[0347] 因此,存在多种合适的药物组合物制剂,所述药物组合物制剂包含本公开的miR-485抑制剂。(参见例如,Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 第18版(1990))。药物组合物通常被配制为无菌并且完全遵循美国食品药品监督管理局的所有良好生产规范(GMP)条例。

[0348] VI. 药盒

[0349] 本公开还提供了药盒或制造产品,所述药盒或制造产品包括本公开的miRNA抑制剂(例如,本文公开的多核苷酸、载体或药物组合物)和任选的使用说明书,例如,根据本文公开的方法的使用说明书。在一些方面,所述药盒或制造产品包括在一个或多个容器中的miR-485抑制剂(例如,本公开的载体(例如AAV载体)、多核苷酸或药物组合物)。在一些方

面,所述药盒或制造产品包括miR-485抑制剂(例如,本公开的载体(例如AAV载体)、多核苷酸或药物组合物)和手册。本领域技术人员将容易地认识到,本公开的miR-485抑制剂(例如,本公开的载体、多核苷酸和药物组合物或它们的组合)可容易地并入本领域熟知的已确定的药盒形式之一中。

[0350] 通过说明而不是通过限制的方式提供以下实例。

[0351] 实施例

[0352] 实施例1:miR-485抑制剂的制备

[0353] (a) 炔烃修饰的酪氨酸的合成:产生炔烃修饰的酪氨酸作为用于合成阳离子载体单元的组织特异性靶向部分(TM,参见图1)以将本公开的胶束引导至BBB中的LAT1转运蛋白的中间体。

[0354] 将N-(叔丁氧基羰基)-L-酪氨酸甲酯(Boc-Tyr-OMe)(0.5g,1.69mmol)和 K_2CO_3 (1.5当量,2.54mmol)于乙腈(4.0ml)中的混合物逐滴添加至炔丙基溴(1.2当量,2.03mmol)。将反应混合物在60下加热过夜。反应后,使用水:乙酸乙酯(EA)萃取反应混合物。然后,使用盐水溶液洗涤有机层。将粗物质通过快速柱(于己烷10%中的EA)纯化。接下来,将所得产物溶解于1,4-二噁烷(1.0ml)和6.0M HCl(1.0ml)中。将反应混合物在100℃下加热过夜。接下来,通过EA除去并提取二噁烷。将NaOH水溶液(0.5M)添加至混合物中直至pH值变为7。通过蒸发器浓缩反应物并在0下以12,000rpm离心。用去离子水洗涤沉淀并冻干。

[0355] (b) 聚(乙二醇)-b-聚(L-赖氨酸)(PEG-PLL)的合成:此合成步骤产生了本公开的阳离子载体单元的水溶性生物聚合物(WP)和阳离子载体(CC)(参见图1)。

[0356] 通过Lys(TFA)-NCA与作为大分子引发剂的单甲氧基PEG(MeO-PEG)的开环聚合合成聚(乙二醇)-b-聚(L-赖氨酸)。简言之,将MeO-PEG(600mg,0.12mmol)和Lys(TFA)-NCA(2574mg,9.6mmol)分别溶解于含有1M硫脲和DMF(或NMP)的DMF中。通过微型注射器将Lys(TFA)-NCA溶液滴入MeO-PEG溶液中,并将反应混合物在37下搅拌4天。用氩气和真空吹扫反应瓶。所有反应均在氩气氛中进行。反应后,将混合物沉淀到过量的乙醚中。将沉淀物重新溶解于甲醇中并再次沉淀到冷乙醚中。然后将其过滤,并在真空中干燥后获得白色粉末。对于PEG-PLL(TFA)中TFA基团的脱保护,遵循下一步骤。

[0357] 将MeO-PEG-PLL(TFA)(500mg)溶解于甲醇(60mL)中,并在搅拌下将1N NaOH(6mL)滴入聚合物溶液中。将混合物在搅拌下在37下保持1天。将反应混合物用10mM HEPES和蒸馏水透析4次。冻干后得到白色PEG-PLL粉末。

[0358] (b) 叠氮基-聚(乙二醇)-b-聚(L-赖氨酸)(N_3 -PEG-PLL)的合成:此合成步骤产生了本公开的阳离子载体单元的水溶性生物聚合物(WP)和阳离子载体(CC)(参见图1)。

[0359] 叠氮基-聚(乙二醇)-b-聚(L-赖氨酸)通过Lys(TFA)-NCA与叠氮基-PEG(N_3 -PEG)的开环聚合合成。简言之,将 N_3 -PEG(300mg,0.06mmol)和Lys(TFA)-NCA(1287mg,4.8mmol)分别溶解于含有1M硫脲和DMF(或NMP)的DMF中。通过微型注射器将Lys(TFA)-NCA溶液滴入 N_3 -PEG溶液中,并将反应混合物在37下搅拌4天。用氩气和真空吹扫反应瓶。所有反应均在氩气氛中进行。反应后,将混合物沉淀到过量的乙醚中。将沉淀物重新溶解于甲醇中并再次沉淀到冷乙醚中。然后将其过滤,并在真空中干燥后获得白色粉末。对于PEG-PLL(TFA)中TFA基团的脱保护,遵循下一步骤。

[0360] 将 N_3 -PEG-PLL(500mg)溶解于甲醇(60mL)中,并在搅拌下将1N NaOH(6mL)滴入聚合

物溶液中。将混合物在搅拌下在37下保持1天。将反应混合物用10mM HEPES和蒸馏水透析4次。冻干后得到白色N₃-PEG-PLL粉末。

[0361] (c) (甲氧基或)叠氮基-聚(乙二醇)-b-聚(L-赖氨酸/烟酰胺/巯基丙酰胺)(N₃-PEG-PLL(Nic/SH))的合成:在此步骤中,将组织特异性佐剂部分(AM,参见图1)连接至本公开的阳离子载体单元的WP-CC组分。阳离子载体单元中使用的组织特异性佐剂部分(AM)是烟酰胺(维生素B3)。此步骤将产生图1中描绘的阳离子载体单元的WP-CC-AM组分。

[0362] 叠氮基-聚(乙二醇)-b-聚(L-赖氨酸/烟酰胺/巯基丙酰胺)(N₃-PEG-PLL(Nic/SH))在EDC/NHS存在下通过N₃-PEG-PLL和烟酸的化学改性合成。将N₃-PEG-PLL(372mg,25.8μmol)和烟酸(556.7mg,针对PEG-PLL的NH₂ 1.02当量)分别溶解于去离子水和甲醇(1:1)的混合物中。EDC·HCl(556.7mg,针对N₃-PEG-PLL的NH₂ 1.5当量)添加至烟酸溶液中,并将NHS(334.2mg,针对PEG-PLL的NH₂ 1.5当量)逐步添加至混合物中。

[0363] 将反应混合物添加至N₃-PEG-PLL溶液中。将反应混合物在搅拌下保持在37持续16小时。16小时后,将3,3'-二硫代二丙酸(36.8mg,0.1当量)溶解于甲醇中,将EDC·HCl(40.3mg,0.15当量)和NHS(24.2mg,0.15当量)各自溶解于去离子水中。然后,将NHS和EDC·HCl依次添加至3,3'-二硫代二丙酸溶液中。添加粗N₃-PEG-PLL(Nic)溶液后,将混合物溶液在37下搅拌4小时。

[0364] 为了纯化,将混合物用甲醇透析2小时,添加DL-二硫苏糖醇(DTT,40.6mg,0.15当量),然后激活30分钟。

[0365] 为了除去DTT,将混合物依次用甲醇、去离子水中的50%甲醇、去离子水透析。

[0366] d) 苯丙氨酸-聚(乙二醇)-b-聚(L-赖氨酸/烟酰胺/巯基丙酰胺)(Phe-PEG-PLL(Nic/SH))的合成:在此步骤中,将组织特异性靶向部分(TM)连接至在前一步骤中合成的WP-CC-AM组分。通过步骤(a)中产生的中间体与步骤(c)的产物的反应产生了TM组分(苯丙氨酸)。

[0367] 为了靶向血管中的脑内皮组织,作为LAT1靶向氨基酸,在铜催化剂存在下通过N₃-PEG-PLL(Nic/SH)与炔烃修饰的酪氨酸之间的点击反应引入苯丙氨酸。简言之,将N₃-PEG-PLL(Nic/SH)(130mg,6.5μmol)和炔烃修饰的苯丙氨酸(5.7mg,4.0当量)溶解于去离子水(或50mM磷酸钠缓冲液)中。然后,CuSO₄·H₂O(0.4mg,25mol%)和三(3-羟丙基三唑基甲基)胺(THPTA,3.4mg,1.2当量)溶解于去离子水中并添加N₃-PEG-PLL(Nic/SH)溶液。然后,将抗坏血酸钠(3.2mg,2.5当量)添加至混合物溶液中。将反应混合物在室温下在搅拌下保持16小时。反应后,将混合物转移至透析膜(MWC0=7,000)中并用去离子水透析1天。冻干后获得最终产物。

[0368] (e) 聚离子复合物(PIC)胶束制备-一旦如上所述产生了本公开的阳离子载体单元,就产生了胶束。本实施例中描述的胶束包含与反义寡核苷酸有效载荷组合的阳离子载体单元。

[0369] 通过混合MeO-或Phe-PEG-PLL(Nic)和miRNA来制备纳米尺寸的PIC胶束。将PEG-PLL(Nic)以0.5mg/mL浓度溶解于HEPES缓冲液(10mM)中。然后以2:1(v/v)的miRNA抑制剂(SEQ ID NO:2-30)(例如,AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC;SEQ ID NO:30)与聚合物比率将不含RNA酶的游离水中的miRNA溶液(22.5μM)与聚合物溶液混合。

[0370] 通过优化胶束形成条件,即聚合物(本公开的载体)中的胺与抗miRNA(有效载荷)

中的磷酸酯之间的比率来确定聚合物与抗miRNA的混合比率。将聚合物(载体)和抗miRNA(有效载荷)的混合物通过多涡旋以3000rpm剧烈混合90秒,并在室温下保持30分钟以使胶束稳定。

[0371] 在使用前将胶束(10 μ M的抗miRNA浓度)储存在4。使用相同方法制备MeO-或Phe-胶束,并且在胶束制备过程中通过混合两种聚合物还制备了不同量的含Phe胶束(25%至75%)。

[0372] 实施例2:ALS中IL-1 β 和PGC-1 α 表达的分析

[0373] 为了开始评估本文公开的miR-485抑制剂是否能够治疗ALS,使用了已建立的ALS动物模型(即,SOD1-ALS小鼠)。为了产生ALS小鼠,雌性SOD1G93A突变型转基因小鼠背景B6/SJL购自Jackson Laboratory,并与WT B6/SJL一起饲养。SOD1G93A突变型小鼠的基因型通过按照由杰克逊实验室提供的标准PCR条件对尾部DNA进行PCR分析来确认。混合基因型小鼠每笼圈养4至5只,12小时光照/12小时黑暗周期,并且随意进食和饮水。所有动物程序均根据建阳大学关于实验室动物护理和使用的指南进行。

[0374] 简言之,分离来自ALS小鼠和野生型动物的脊髓(腰椎区域)和骨骼肌的组织样品。然后,使用蛋白质印迹来测量IL-1 β 和PGC-1 α 表达。如图2A和2B所示,在脊髓中,存在IL-1 β 表达(已知炎症介质)的显著增加。在骨骼肌中,与野生型动物相比,ALS小鼠表达较低水平的PGC-1 α 表达。

[0375] 这些结果表明ALS与基因表达的某些差异相关,其可使用本公开的miR-485抑制剂来靶向。

[0376] 实施例3:miR-485抑制剂对疾病发作的分析

[0377] 为了开始评估上述假设,将ALS小鼠通过ICV注射用两次miR-485抑制剂施用(总剂量=3 μ g/小鼠)进行处理。对照ALS小鼠通过ICV注射接受两次PBS施用,所述PBS是之前已被测试为减缓ALS的进展的反义寡核苷酸。然后,评估ALS的发作。在约两周内对小鼠进行了六次评估。无任何症状的小鼠计分为0分。后肢震颤的小鼠计分为1分。在小鼠通过尾巴悬挂时显示后肢僵硬麻痹的小鼠计分为2分。显示跌倒或行走困难的小鼠计分为3分。拖拽后肢并且不能站立的小鼠计分为4分。在小鼠仰卧时不能纠正体位的小鼠计分为5分。如果小鼠评估得分低于4分,则小鼠被认为表现出疾病发作。

[0378] 如图3A和3B所示,与用PBS处理的对照动物相比,用本文公开的miR-485抑制剂处理的动物具有显著更晚的疾病发作。对照动物中的平均发病时间是约90天。在miR-485处理的动物中,疾病发作延迟了约一个月(即,约120天)。此外,与对照动物相比,用miR-485抑制剂处理的动物也表现出增加的存活率(参见图3C)。

[0379] 实施例4:miR-485抑制剂对肌肉强度的分析

[0380] 为确定miR-485抑制剂是否能够改善与ALS相关的其它症状,对来自实施例3的小鼠进行悬丝测试以测量肌肉强度。如图4所示,与用PBS处理的动物相比,用miR-485抑制剂处理的动物在所有测量的时间都表现出大大增加的跌落时间的潜伏期。

[0381] 总体而言,上述结果证明,miR-485抑制剂通过不仅延迟疾病发作、而且能够改善与ALS相关的一种或多种症状(例如,肌肉无力)而在ALS受试者中具有治疗效果。此外,上述数据表明,与本领域的其它药物相比,本文公开的miR-485抑制剂在显著较低的剂量下发挥更大的治疗效果。

[0382] 实施例5:在静脉内施用后miR-485抑制剂的治疗效果的分析

[0383] 为了进一步评估miR-485抑制剂的治疗效果,ALS小鼠(参见实施例2)从出生后约两个月(即,第66天)开始接受了静脉内施用PBS或miR-485抑制剂(2.5mg/kg/剂量)。参见图9A。每只小鼠接受4次总剂量,给药间隔为1次/周(出生后第66、73、80和87天)。然后,在出生后约100-125天,使用如下文进一步描述的转棒、悬丝和平衡木测试来评估体重和运动功能。还处死一些动物,并使用蛋白质印迹和/或免疫组织化学评估腰椎脊髓中各种蛋白质(例如,ChAT1、Iba1、PGC1、SIRT1、GFAP、TNF和IL-1)的表达。

[0384] 通过使用神经学评分测试评估疾病发作。神经学评分测试如下进行评估:4正常(无运动功能障碍迹象);3小鼠通过尾巴悬挂时后肢震颤;2步态异常;1拖拽至少一个后肢;0当动物置于仰卧位时,30秒内无法自行恢复。当连续2周出现神经系统得分3或更低时,将其评估为疾病发作。

[0385] 转棒:将小鼠在转棒装置(3cm棒直径)上以10rpm的固定速度训练600秒,每天一次,连续3天。在300秒内以4-40rpm的恒定加速速率评估在棒上的表现。以60分钟间隔进行两次连续试验。

[0386] 悬丝测试:对于运动协调的丝悬垂测试,将小鼠在2mm厚和55cm长的拉紧金属丝上进行测试。将定制的悬垂装置由60cm长的黑色聚苯乙烯盒组成,小鼠可跌落所述盒中。记录小鼠在悬垂后从丝上落下的潜伏期,测量每只小鼠3次试验中的最长悬垂时间。

[0387] 平衡木测试:小鼠在0.5cm宽、1m长的平衡木装置上。平衡木由50cm高的透明Plexiglas结构组成,跑道尽头具有暗休息箱。早上,将小鼠在横梁上训练3次,允许至少15分钟的试验间休息期。将小鼠放在黑暗休息箱中至少10秒,然后放回它们的家笼中。然后在训练阶段后至少2小时,在下午重新测试小鼠。在测试期间,记录小鼠表现。所述测试由三个试验组成,试验间休息期为至少10分钟。对于三个测试中的最后一个,手动计算总爪滑次数。

[0388] 如图9B所示,与对照动物相比,用miR-485抑制剂处理的ALS小鼠疾病发作延迟(大约21天)。此外,与对照动物相比,用miR-485抑制剂处理的ALS小鼠还表现出体重减轻减少(参见图9G和9H)和存活率增加(参见图9I)。并且,如图9C-9F所示,用miR-485抑制剂处理的ALS小鼠还表现出改善的运动功能。例如,在miR-485抑制剂施用后,ALS小鼠表现出跌落时间的潜伏期增加(在转棒和悬丝测试两者中-参见图9C和9D),脚滑次数减少(梁平衡测试-参见图9E)以及梁跨过时间减少(梁平衡测试-参见图9F)。

[0389] 上述结果进一步证明本公开的miR-485抑制剂在治疗ALS中的功效,例如使得运动功能改善、体重减轻减少、疾病发作延迟和存活率增加。

[0390] 实施例6:对miR-485抑制剂的安全性特征的分析

[0391] 为了评估miR-485抑制剂的体内施用是否会导致任何副作用,进行了单剂量毒性测试。简言之,以下列剂量之一向雄性和雌性大鼠施用miR-485抑制剂:(i) 0mg/kg (G1), (ii) 3.75mg/kg (G2), (iii) 7.5mg/kg (G3), 和 (iv) 15mg/kg (G4)。然后,在转移后的不同时间点在动物中观察体重、死亡、临床体征和病理学的任何异常。

[0392] 如图5A和5B所示,施用miR-485抑制剂(在所有测试的剂量下)似乎对雄性和雌性大鼠的体重没有任何异常影响。类似地,在任何经处理的动物中均未观察到死亡和病理学异常(参见图6A、6B、8A和8B)。至于可能的临床相关副作用(例如,NOA、充血(尾部)和水肿

(面部、前肢或后肢)), 在所有经处理的动物中, 任何此类影响在施用后1天都消失了(参见图7A和7B)。

[0393] 上述结果证明, 本文公开的miR-485抑制剂不仅在治疗ALS方面具有治疗效果, 而且在体内施用时也是安全的。

[0394] 实施例7: miR-485抑制剂对SOD1活性的影响的分析

[0395] SOD1 (也称为铜-锌超氧化物歧化酶) 在保护细胞 (例如神经元) 免受氧化应激方面发挥着重要作用。SOD1中的突变 (例如G93A) 一直牵涉于ALS中。因此, 为了更好地理解本文公开的miR-485抑制剂治疗ALS的潜在机制, 将NSC-34细胞 (通过富含运动神经元的胚胎小鼠脊髓细胞与小鼠成神经细胞瘤的融合产生的杂合细胞系) 用GFP-标记的野生型SOD1 (SOD1WT) 和包含G93A突变的SOD1 (SOD1G93A) 构建体转染。然后, 用不同浓度 (0、50、100或300nM) 的miR-485抑制剂处理经转染的细胞。使用蛋白质印迹和免疫荧光评估经转染细胞中各种SOD1相关活性 (SOD1聚集、SIRT1和PGC-1 α 表达和细胞凋亡)。为了通过蛋白质印迹评估, 在转染后48小时, 在Tris缓冲液 (pH 7.5) 中的2% SDS中制备总细胞提取物。然后, 评估了SOD1物种在非变性洗涤剂中的不溶解性。为了通过免疫荧光进行评估, 在转染之前, 将NSC-34细胞接种在盖玻片上并生长过夜。然后, 转染后48小时, 将细胞在PBS中洗涤, 在室温下用甲醇固定10分钟, 并在室温下在湿润室中用PBS中的0.1% Triton X-100透化10分钟。所使用的抗体和浓度是: 小鼠GFP (Santacruz), 1:100; 兔抗LC3B (Cell Signaling Technology)。使用共聚焦显微镜 (Leica 524DMi8) 获得图像。

[0396] 如图10A所示, 如通过蛋白质印迹所评估, 经转染NSC-34细胞中的miR-485抑制剂处理导致突变型SOD1聚集的浓度依赖性减少。miR-485抑制剂减少突变型SOD1聚集的这种效应也通过免疫荧光得到证实 (参见图10B)。如所示, 通过SOD1G93A聚集形成的包涵体的数量显著减少。此外, 在经miR-485抑制剂处理的细胞中, SOD1G93A经常与LC3B的表达共定位 (参见图10B中的白色箭头), LC3B是MAP1A和MAP1B微管结合蛋白的亚基并在自噬体膜结构中起着核心作用。LC3B与SOD1G93A的共定位表明细胞质SOD1的一部分可通过自噬-内溶酶体系统降解。此外, 在用miR-485抑制剂处理的SOD1G93A转染的NSC-34细胞中, SIRT1和PGC-1 α 蛋白表达均增加 (参见图10C)。用miR-485抑制剂处理似乎对用野生型SOD1转染的NSC-34细胞中的SIRT1和PGC-1 α 蛋白表达没有任何显著影响。最后, miR-485抑制剂处理还减少了SOD1G93A诱导的细胞凋亡, 如可通过用SOD1G93A构建体转染并用miR-485抑制剂处理的NSC-34细胞中裂解的半胱天冬酶-3的表达减少所证明。

[0397] 不受任一种理论束缚, 以上提供的结果共同证明本文提供的miR-485抑制剂可通过抑制SOD1G93A诱导的神经元损伤来治疗ALS。

[0398] ***

[0399] 应当理解, 意图使用具体实施方式部分而非发明内容以及摘要部分来对权利要求进行解释。发明内容和摘要部分可阐明如发明人所构想的本公开的一个或多个但非所有的示例性方面, 并且因此, 并不意图通过任何方式对本公开和所附权利要求进行限制。

[0400] 本公开已经在上文中借助于说明特定功能的实施及其关系的功能性结构单元进行了描述。为便于描述, 本文中已经任意地界定这些功能性结构单元的边界。也可限定替代边界, 只要指定功能及其相互关系被适当地执行。

[0401] 具体方面的前述描述将充分地揭示本公开的一般特性, 以使得其它人通过应用本

领域中的知识,在无过度实验且不背离本公开的一般概念的情况下,可容易地针对各种应用对此类具体方面进行修改和/或改变。因此,基于本文呈现的教义和指导,此类改变和修改意图在所公开方面的等效物的含义和范围内。应了解,本文的措辞或术语是出于描述而非限制的目的,以使得本说明书的术语或措辞应由熟练的技术人员根据教义和指导进行解释。

[0402] 本公开的广度和范围不应受任何上述示例性方面限制,而应仅根据以下权利要求及其等效物定义。

[0403] 可在整篇本申请中引用的所有引用参考文献(包括参考文献、专利、专利申请和网站)的内容据此出于任何目的以引用的方式明确整体并入本文,所述参考文献中引用的参考文献也是如此。

序列表

<110>	生物欧赛加有限责任公司	
<120>	miRNA-485抑制剂用于治疗肌萎缩性侧索硬化症 (ALS) 的用途	
<130>	4366.021PC03/C-K/DKC	
<150>	US 62/971,771	
<151>	2020-02-07	
<150>	US 62/989,487	
<151>	2020-03-13	
<150>	US 63/047,147	
<151>	2020-07-01	
<160>	122	
<170>	PatentIn version 3.5	
<210>	1	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	1	
	gucauacacg gcucuccucu cu	22
<210>	2	
<211>	7	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	2	
	uguauga	7
<210>	3	
<211>	8	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	3	
	guguauga	8
<210>	4	
<211>	9	

<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 4	
cguguauga	9
<210> 5	
<211> 10	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 5	
ccguguauga	10
<210> 6	
<211> 11	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 6	
gccguguaug a	11
<210> 7	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 7	
agccguguau ga	12
<210> 8	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 8	
gagccgugua uga	13
<210> 9	

<211> 14	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 9	
agagccgugu aua	14
<210> 10	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 10	
gagagccgug uaua	15
<210> 11	
<211> 16	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 11	
ggagagccgu guaua	16
<210> 12	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 12	
aggagagccg uguaua	17
<210> 13	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 13	
gaggagagcc gugua	18

<210>	14	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	14	
agaggagagc cguguauga		19
<210>	15	
<211>	20	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	15	
gagaggagag ccguguauga		20
<210>	16	
<211>	8	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	16	
uguaugac		8
<210>	17	
<211>	9	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	17	
guguaugac		9
<210>	18	
<211>	10	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	18	

cguguaugac	10
<210> 19	
<211> 11	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 19	
ccguguauga c	11
<210> 20	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 20	
gccguguaug ac	12
<210> 21	
<211> 13	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 21	
agccguguau gac	13
<210> 22	
<211> 14	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 22	
gagccgugua ugac	14
<210> 23	
<211> 15	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	

<400> 23	
agagccgugu augac	15
<210> 24	
<211> 16	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 24	
gagagccgug uaugac	16
<210> 25	
<211> 17	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 25	
ggagagccgu guaagac	17
<210> 26	
<211> 18	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 26	
aggagagccg uguaugac	18
<210> 27	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 27	
gaggagagcc guguaugac	19
<210> 28	
<211> 20	
<212> RNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	

<223> 寡核苷酸	
<400> 28	
agaggagagc cguguaugac	20
<210> 29	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 29	
gagaggagag ccguguauga c	21
<210> 30	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 30	
agagaggaga gccguguaug ac	22
<210> 31	
<211> 747	
<212> PRT	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 31	
Met Ala Asp Glu Ala Ala Leu Ala Leu Gln Pro Gly Gly Ser Pro Ser	
1 5 10 15	
Ala Ala Gly Ala Asp Arg Glu Ala Ala Ser Ser Pro Ala Gly Glu Pro	
20 25 30	
Leu Arg Lys Arg Pro Arg Arg Asp Gly Pro Gly Leu Glu Arg Ser Pro	
35 40 45	
Gly Glu Pro Gly Gly Ala Ala Pro Glu Arg Glu Val Pro Ala Ala Ala	
50 55 60	
Arg Gly Cys Pro Gly Ala Ala Ala Ala Leu Trp Arg Glu Ala Glu	
65 70 75 80	
Ala Glu Ala Ala Ala Ala Gly Gly Glu Gln Glu Ala Gln Ala Thr Ala	
85 90 95	
Ala Ala Gly Glu Gly Asp Asn Gly Pro Gly Leu Gln Gly Pro Ser Arg	
100 105 110	
Glu Pro Pro Leu Ala Asp Asn Leu Tyr Asp Glu Asp Asp Asp Asp Glu	

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

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

77

260	265	270
Phe Arg Ser Arg Asp Gly Ile Tyr	Ala Arg Leu Ala Val Asp Phe Pro	
275	280	285
Asp Leu Pro Asp Pro Gln Ala Met Phe	Asp Ile Glu Tyr Phe Arg Lys	
290	295	300
Asp Pro Arg Pro Phe Phe Lys Phe Ala	Lys Glu Ile Tyr Pro Gly Gln	
305	310	315
Phe Gln Pro Ser Leu Cys His Lys Phe	Ile Ala Leu Ser Asp Lys Glu	
325	330	335
Gly Lys Leu Leu Arg Asn Tyr Thr Gln	Asn Ile Asp Thr Leu Glu Gln	
340	345	350
Val Ala Gly Ile Gln Arg Ile Ile Gln	Cys His Gly Ser Phe Ala Thr	
355	360	365
Ala Ser Cys Leu Ile Cys Lys Tyr Lys	Val Asp Cys Glu Ala Val Arg	
370	375	380
Gly Asp Ile Phe Asn Gln Val Val Pro	Arg Cys Pro Arg Cys Pro Ala	
385	390	395
Asp Glu Pro Leu Ala Ile Met Lys Pro	Glu Ile Val Phe Phe Gly Glu	
405	410	415
Asn Leu Pro Glu Gln Phe His Arg Ala	Met Lys Tyr Asp Lys Asp Glu	
420	425	430
Val Asp Leu Leu Ile Val Ile Gly Ser	Ser Leu Lys Val Arg Pro Val	
435	440	445
Ala Leu Ile Pro Ser Asn Gln Tyr Leu	Phe Leu Pro Pro Asn Arg Tyr	
450	455	460
Ile Phe His Gly Ala Glu Val Tyr Ser	Asp Ser Glu Asp Asp Val Leu	
465	470	475
Ser Ser Ser Ser Cys Gly Ser Asn Ser	Asp Ser Gly Thr Cys Gln Ser	
485	490	495
Pro Ser Leu Glu Glu Pro Met Glu Asp	Glu Ser Glu Ile Glu Glu Phe	
500	505	510
Tyr Asn Gly Leu Glu Asp Glu Pro Asp	Val Pro Glu Arg Ala Gly Gly	
515	520	525
Ala Gly Phe Gly Thr Asp Gly Asp Asp	Gln Glu Ala Ile Asn Glu Ala	
530	535	540
Ile Ser Val Lys Gln Glu Val Thr Asp	Met Asn Tyr Pro Ser Asn Lys	
545	550	555
Ser		560
<210>	33	

<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	智人 (Homo sapiens)	
<400>	33	
agaggcuggc	cgugaugaauc	22
<210>	34	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	miR-485-3p	
<400>	34	
agucauacac	ggcucuccuc	22
<210>	35	
<211>	22	
<212>	RNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	miR-485-5p	
<400>	35	
agaggcuggc	cgugaugaauc	22
<210>	36	
<211>	472	
<212>	PRT	
<213>	智人 (Homo sapiens)	
<400>	36	
Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly		
1	5	10
Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu		
20	25	30
Leu Ile Gln Lys Thr Ile Lys Lys Gln Val Val Leu Glu Glu Gly Thr		
35	40	45
Ile Ala Phe Lys Asn Trp Val Lys Thr Gly Thr Glu Val Tyr Arg Gln		
50	55	60
Phe Trp Ile Phe Asp Val Gln Asn Pro Gln Glu Val Met Met Asn Ser		
65	70	75
Ser Asn Ile Gln Val Lys Gln Arg Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Val Arg		
85	90	95
Phe Leu Ala Lys Glu Asn Val Thr Gln Asp Ala Glu Asp Asn Thr Val		

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

Asn Glu Thr Gly Thr Ile Gly Asp Glu Lys Ala Asn Met Phe Arg Ser
 420 425 430
 Gln Val Thr Gly Lys Ile Asn Leu Leu Gly Leu Ile Glu Met Ile Leu
 435 440 445
 Leu Ser Val Gly Val Val Met Phe Val Ala Phe Met Ile Ser Tyr Cys
 450 455 460
 Ala Cys Arg Ser Lys Thr Ile Lys
 465 470
 <210> 37
 <211> 288
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <400> 37
 Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly
 1 5 10 15
 Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu
 20 25 30
 Leu Ile Gln Lys Thr Ile Lys Lys Gln Val Val Leu Glu Glu Gly Thr
 35 40 45
 Ile Ala Phe Lys Asn Trp Val Lys Thr Gly Thr Glu Val Tyr Arg Gln
 50 55 60
 Phe Trp Ile Phe Asp Val Gln Asn Pro Gln Glu Val Met Met Asn Ser
 65 70 75 80
 Ser Asn Ile Gln Val Lys Gln Arg Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Val Arg
 85 90 95
 Phe Leu Ala Lys Glu Asn Val Thr Gln Asp Ala Glu Asp Asn Thr Val
 100 105 110
 Ser Phe Leu Gln Pro Asn Gly Ala Ile Phe Glu Pro Ser Leu Ser Val
 115 120 125
 Gly Thr Glu Ala Asp Asn Phe Thr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Ala
 130 135 140
 Ala Ser His Ile Tyr Gln Asn Gln Phe Val Gln Met Ile Leu Asn Ser
 145 150 155 160
 Leu Ile Asn Lys Ser Lys Ser Ser Met Phe Gln Val Arg Thr Leu Arg
 165 170 175
 Glu Leu Leu Trp Gly Tyr Arg Asp Pro Phe Leu Ser Leu Val Pro Tyr
 180 185 190
 Pro Val Thr Thr Thr Val Gly Leu Phe Tyr Pro Tyr Asn Asn Thr Ala
 195 200 205

Asp Gly Val Tyr Lys Val Phe Asn Gly Lys Asp Asn Ile Ser Lys Val		
210	215	220
Ala Ile Ile Asp Thr Tyr Lys Gly Lys Arg Asn Leu Ser Tyr Trp Glu		
225	230	235 240
Ser His Cys Asp Met Ile Asn Gly Thr Asp Ala Ala Ser Phe Pro Pro		
	245	250 255
Phe Val Glu Lys Ser Gln Val Leu Gln Phe Phe Ser Ser Asp Ile Cys		
	260	265 270
Arg Glu Thr Cys Val His Phe Thr Ser Ser Phe Ser Val Cys Lys Ser		
	275	280 285
<210> 38		
<211> 433		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 38		
Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly		
1	5	10 15
Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu		
	20	25 30
Leu Ile Gln Lys Thr Ile Lys Lys Gln Val Val Leu Glu Glu Gly Thr		
	35	40 45
Ile Ala Phe Lys Asn Trp Val Lys Thr Gly Thr Glu Val Tyr Arg Gln		
	50	55 60
Phe Trp Ile Phe Asp Val Gln Asn Pro Gln Glu Val Met Met Asn Ser		
65	70	75 80
Ser Asn Ile Gln Val Lys Gln Arg Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Val Arg		
	85	90 95
Phe Leu Ala Lys Glu Asn Val Thr Gln Asp Ala Glu Asp Asn Thr Val		
	100	105 110
Ser Phe Leu Gln Pro Asn Gly Ala Ile Phe Glu Pro Ser Leu Ser Val		
	115	120 125
Gly Thr Glu Ala Asp Asn Phe Thr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Ala		
	130	135 140
Ala Ser His Ile Tyr Gln Asn Gln Phe Val Gln Met Ile Leu Asn Ser		
145	150	155 160
Leu Ile Asn Lys Ser Lys Ser Ser Met Phe Gln Val Arg Thr Leu Arg		
	165	170 175
Glu Leu Leu Trp Gly Tyr Arg Asp Pro Phe Leu Ser Leu Val Pro Tyr		
	180	185 190

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

Lys

<210> 39

<211> 412

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 39

Met Gly Cys Asp Arg Asn Cys Gly Leu Ile Ala Gly Ala Val Ile Gly		
1	5	10 15
Ala Val Leu Ala Val Phe Gly Gly Ile Leu Met Pro Val Gly Asp Leu		

20	25	30
Leu Ile Gln Lys Thr Ile Lys Lys Gln Val Val Leu Glu Glu Gly Thr		
35	40	45
Ile Ala Phe Lys Asn Trp Val Lys Thr Gly Thr Glu Val Tyr Arg Gln		
50	55	60
Phe Trp Ile Phe Asp Val Gln Asn Pro Gln Glu Val Met Met Asn Ser		
65	70	75
Ser Asn Ile Gln Val Lys Gln Arg Gly Pro Tyr Thr Tyr Arg Val Arg		
85	90	95
Phe Leu Ala Lys Glu Asn Val Thr Gln Asp Ala Glu Asp Asn Thr Val		
100	105	110
Ser Phe Leu Gln Pro Asn Gly Ala Ile Phe Glu Pro Ser Leu Ser Val		
115	120	125
Gly Thr Glu Ala Asp Asn Phe Thr Val Leu Asn Leu Ala Val Ala Tyr		
130	135	140
Asn Asn Thr Ala Asp Gly Val Tyr Lys Val Phe Asn Gly Lys Asp Asn		
145	150	155
Ile Ser Lys Val Ala Ile Ile Asp Thr Tyr Lys Gly Lys Arg Asn Leu		
165	170	175
Ser Tyr Trp Glu Ser His Cys Asp Met Ile Asn Gly Thr Asp Ala Ala		
180	185	190
Ser Phe Pro Pro Phe Val Glu Lys Ser Gln Val Leu Gln Phe Phe Ser		
195	200	205
Ser Asp Ile Cys Arg Ser Ile Tyr Ala Val Phe Glu Ser Asp Val Asn		
210	215	220
Leu Lys Gly Ile Pro Val Tyr Arg Phe Val Leu Pro Ser Lys Ala Phe		
225	230	235
Ala Ser Pro Val Glu Asn Pro Asp Asn Tyr Cys Phe Cys Thr Glu Lys		
245	250	255
Ile Ile Ser Lys Asn Cys Thr Ser Tyr Gly Val Leu Asp Ile Ser Lys		
260	265	270
Cys Lys Glu Gly Arg Pro Val Tyr Ile Ser Leu Pro His Phe Leu Tyr		
275	280	285
Ala Ser Pro Asp Val Ser Glu Pro Ile Asp Gly Leu Asn Pro Asn Glu		
290	295	300
Glu Glu His Arg Thr Tyr Leu Asp Ile Glu Pro Ile Thr Gly Phe Thr		
305	310	315
Leu Gln Phe Ala Lys Arg Leu Gln Val Asn Leu Leu Val Lys Pro Ser		
325	330	335

Glu Lys Ile Gln Val Leu Lys Asn Leu Lys Arg Asn Tyr Ile Val Pro		
340	345	350
Ile Leu Trp Leu Asn Glu Thr Gly Thr Ile Gly Asp Glu Lys Ala Asn		
355	360	365
Met Phe Arg Ser Gln Val Thr Gly Lys Ile Asn Leu Leu Gly Leu Ile		
370	375	380
Glu Met Ile Leu Leu Ser Val Gly Val Val Met Phe Val Ala Phe Met		
385	390	395
Ile Ser Tyr Cys Ala Cys Arg Ser Lys Thr Ile Lys		
405	410	
<210> 40		
<211> 798		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 40		
Met Ala Trp Asp Met Cys Asn Gln Asp Ser Glu Ser Val Trp Ser Asp		
1	5	10
Ile Glu Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro Leu Cys Pro Asp		
20	25	30
Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn Asp Leu Asp Thr		
35	40	45
Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp Gln Ser Glu Ile		
50	55	60
Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile Phe Glu Lys Ile		
65	70	75
Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu Thr Glu Thr Leu		
85	90	95
Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser Phe Asp Ala Leu		
100	105	110
Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser Pro Ser Ser Met		
115	120	125
Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu Leu		
130	135	140
Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn Glu		
145	150	155
Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg Ile		
165	170	175
Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn Lys		
180	185	190

Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys Ser		
195	200	205
Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr Lys		
210	215	220
Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys Lys		
225	230	235 240
Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln Ala Lys Pro Thr		
245	250	255
Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn Asp Pro Lys Gly		
260	265	270
Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr Leu Ser Val Glu Leu		
275	280	285
Ser Gly Thr Ala Gly Leu Thr Pro Pro Thr Thr Pro Pro His Lys Ala		
290	295	300
Asn Gln Asp Asn Pro Phe Arg Ala Ser Pro Lys Leu Lys Ser Ser Cys		
305	310	315 320
Lys Thr Val Val Pro Pro Pro Ser Lys Lys Pro Arg Tyr Ser Glu Ser		
325	330	335
Ser Gly Thr Gln Gly Asn Asn Ser Thr Lys Lys Gly Pro Glu Gln Ser		
340	345	350
Glu Leu Tyr Ala Gln Leu Ser Lys Ser Ser Val Leu Thr Gly Gly His		
355	360	365
Glu Glu Arg Lys Thr Lys Arg Pro Ser Leu Arg Leu Phe Gly Asp His		
370	375	380
Asp Tyr Cys Gln Ser Ile Asn Ser Lys Thr Glu Ile Leu Ile Asn Ile		
385	390	395 400
Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu Asn Lys Asp Val Ser		
405	410	415
Ser Asp Trp Gln Gly Gln Ile Cys Ser Ser Thr Asp Ser Asp Gln Cys		
420	425	430
Tyr Leu Arg Glu Thr Leu Glu Ala Ser Lys Gln Val Ser Pro Cys Ser		
435	440	445
Thr Arg Lys Gln Leu Gln Asp Gln Glu Ile Arg Ala Glu Leu Asn Lys		
450	455	460
His Phe Gly His Pro Ser Gln Ala Val Phe Asp Asp Glu Ala Asp Lys		
465	470	475 480
Thr Gly Glu Leu Arg Asp Ser Asp Phe Ser Asn Glu Gln Phe Ser Lys		
485	490	495
Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp Gly Leu Phe Asp		

500	505	510
Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro Trp Asp Gly Thr		
515	520	525
Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys Ser Ser Phe Asn		
530	535	540
Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser Leu Phe Ser Gln		
545	550	555
Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg His Arg		
565	570	575
Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro Gly		
580	585	590
Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ser His Tyr		
595	600	605
Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr Val Arg Ser Arg Ser		
610	615	620
Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser Tyr Glu Glu Tyr		
625	630	635
Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg Arg Glu Tyr Glu Lys		
645	650	655
Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg Gln Arg Gln Lys Ala		
660	665	670
Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile Arg Pro Asp Thr		
675	680	685
Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val Phe Gly Glu Ile Glu		
690	695	700
Glu Cys Thr Val Asn Leu Arg Asp Asp Gly Asp Ser Tyr Gly Phe Ile		
705	710	715
Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala Leu Glu Asn Gly Tyr		
725	730	735
Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu Leu Tyr Phe Cys Gly		
740	745	750
Arg Lys Gln Phe Phe Lys Ser Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Ser Asn Ser		
755	760	765
Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys Tyr Asp Ser Leu Asp		
770	775	780
Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser Leu Arg Arg		
785	790	795
<210> 41		
<211> 271		

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 41

```

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

```

<210> 42

<211> 803

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 42

```

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

```

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

595	600	605
Glu Ser Ser His Tyr Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr		
610	615	620
Val Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp		
625	630	635
Ser Tyr Glu Glu Tyr Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg		
645	650	655
Arg Glu Tyr Glu Lys Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg		
660	665	670
Gln Arg Gln Lys Ala Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys		
675	680	685
Ile Arg Pro Asp Thr Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val		
690	695	700
Phe Gly Glu Ile Glu Glu Cys Thr Val Asn Leu Arg Asp Asp Gly Asp		
705	710	715
Ser Tyr Gly Phe Ile Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala		
725	730	735
Leu Glu Asn Gly Tyr Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu		
740	745	750
Leu Tyr Phe Cys Gly Arg Lys Gln Phe Phe Lys Ser Asn Tyr Ala Asp		
755	760	765
Leu Asp Ser Asn Ser Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys		
770	775	780
Tyr Asp Ser Leu Asp Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser		
785	790	795
800		
Leu Arg Arg		
<210> 43		
<211> 786		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 43		
Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro		
1	5	10
15		
Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn		
20	25	30
Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp		
35	40	45
Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile		
50	55	60

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

370	375	380
Leu Ile Asn Ile Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu Asn		
385	390	395
Lys Asp Val Ser Ser Asp Trp Gln Gly Gln Ile Cys Ser Ser Thr Asp		
405	410	415
Ser Asp Gln Cys Tyr Leu Arg Glu Thr Leu Glu Ala Ser Lys Gln Val		
420	425	430
Ser Pro Cys Ser Thr Arg Lys Gln Leu Gln Asp Gln Glu Ile Arg Ala		
435	440	445
Glu Leu Asn Lys His Phe Gly His Pro Ser Gln Ala Val Phe Asp Asp		
450	455	460
Glu Ala Asp Lys Thr Gly Glu Leu Arg Asp Ser Asp Phe Ser Asn Glu		
465	470	475
Gln Phe Ser Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp		
485	490	495
Gly Leu Phe Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro		
500	505	510
Trp Asp Gly Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys		
515	520	525
Ser Ser Phe Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser		
530	535	540
Leu Phe Ser Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe		
545	550	555
Ser Arg His Arg Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg Ser		
565	570	575
Arg Ser Pro Gly Ser Arg Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu		
580	585	590
Ser Ser His Tyr Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr Val		
595	600	605
Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser		
610	615	620
Tyr Glu Glu Tyr Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg Arg		
625	630	635
Glu Tyr Glu Lys Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg Gln		
645	650	655
Arg Gln Lys Ala Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile		
660	665	670
Arg Pro Asp Thr Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val Phe		
675	680	685

Gly	Glu	Ile	Glu	Glu	Cys	Thr	Val	Asn	Leu	Arg	Asp	Asp	Gly	Asp	Ser
690						695					700				
Tyr	Gly	Phe	Ile	Thr	Tyr	Arg	Tyr	Thr	Cys	Asp	Ala	Phe	Ala	Ala	Leu
705					710				715						720
Glu	Asn	Gly	Tyr	Thr	Leu	Arg	Arg	Ser	Asn	Glu	Thr	Asp	Phe	Glu	Leu
				725					730					735	
Tyr	Phe	Cys	Gly	Arg	Lys	Gln	Phe	Phe	Lys	Ser	Asn	Tyr	Ala	Asp	Leu
			740					745					750		
Asp	Ser	Asn	Ser	Asp	Asp	Phe	Asp	Pro	Ala	Ser	Thr	Lys	Ser	Lys	Tyr
		755					760					765			
Asp	Ser	Leu	Asp	Phe	Asp	Ser	Leu	Leu	Lys	Glu	Ala	Gln	Arg	Ser	Leu
		770				775						780			
Arg	Arg														
785															
<210>	44														
<211>	289														
<212>	PRT														
<213>	智人 (Homo sapiens)														
<400>	44														
Met	Asp	Glu	Gly	Tyr	Phe	Cys	Ala	Ala	Leu	Val	Gly	Glu	Asp	Gln	Pro
1			5						10					15	
Leu	Cys	Pro	Asp	Leu	Pro	Glu	Leu	Asp	Leu	Ser	Glu	Leu	Asp	Val	Asn
			20					25						30	
Asp	Leu	Asp	Thr	Asp	Ser	Phe	Leu	Gly	Gly	Leu	Lys	Trp	Cys	Ser	Asp
		35					40					45			
Gln	Ser	Glu	Ile	Ile	Ser	Asn	Gln	Tyr	Asn	Asn	Glu	Pro	Ser	Asn	Ile
		50				55					60				
Phe	Glu	Lys	Ile	Asp	Glu	Glu	Asn	Glu	Ala	Asn	Leu	Leu	Ala	Val	Leu
65				70					75						80
Thr	Glu	Thr	Leu	Asp	Ser	Leu	Pro	Val	Asp	Glu	Asp	Gly	Leu	Pro	Ser
				85					90					95	
Phe	Asp	Ala	Leu	Thr	Asp	Gly	Asp	Val	Thr	Thr	Asp	Asn	Glu	Ala	Ser
			100					105					110		
Pro	Ser	Ser	Met	Pro	Asp	Gly	Thr	Pro	Pro	Pro	Gln	Glu	Ala	Glu	Glu
			115				120					125			
Pro	Ser	Leu	Leu	Lys	Lys	Leu	Leu	Leu	Ala	Pro	Ala	Asn	Thr	Gln	Leu
			130				135					140			
Ser	Tyr	Asn	Glu	Cys	Ser	Gly	Leu	Ser	Thr	Gln	Asn	His	Ala	Asn	His
145					150					155					160

Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser		
	165	170 175
Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg		
	180	185 190
Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro		
	195	200 205
Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys		
	210	215 220
Thr Ser Lys Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln		
225	230	235 240
Ala Lys Pro Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro Asn		
	245	250 255
Asp Pro Lys Gly Ser Pro Phe Glu Asn Lys Thr Ile Glu Arg Thr Leu		
	260	265 270
Ser Val Glu Leu Ser Gly Thr Ala Gly Val Lys Thr Asn Leu Ile Ser		
	275	280 285

Lys

<210> 45

<211> 276

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 45

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

130	135	140
Glu Pro Ser Leu Leu Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln		
145	150	155
Leu Ser Tyr Asn Glu Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn		
165	170	175
His Asn His Arg Ile Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn		
180	185	190
Ser Trp Ser Asn Lys Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln		
195	200	205
Arg Arg Pro Cys Ser Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp		
210	215	220
Pro Pro His Thr Lys Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys		
225	230	235
Cys Thr Ser Lys Lys Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu		
245	250	255
Gln Ala Lys Pro Thr Thr Leu Ser Leu Pro Leu Thr Pro Glu Ser Pro		
260	265	270
Asn Leu Phe Leu		
275		
<210> 46		
<211> 138		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 46		
Met Asp Glu Gly Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro		
1	5	10
Leu Cys Pro Asp Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn		
20	25	30
Asp Leu Asp Thr Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp		
35	40	45
Gln Ser Glu Ile Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile		
50	55	60
Phe Glu Lys Ile Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu		
65	70	75
Thr Glu Thr Leu Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser		
85	90	95
Phe Asp Ala Leu Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser		
100	105	110
Pro Ser Ser Met Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu		

115	120	125
Pro Ser Leu Val Arg Thr Leu Pro Thr Val		
130	135	
<210> 47		
<211> 301		
<212> PRT		
<213> 智人 (Homo sapiens)		
<400> 47		
Met Ala Trp Asp Met Cys Asn Gln Asp Ser Glu Ser Val Trp Ser Asp		
1 5 10 15		
Ile Glu Cys Ala Ala Leu Val Gly Glu Asp Gln Pro Leu Cys Pro Asp		
20 25 30		
Leu Pro Glu Leu Asp Leu Ser Glu Leu Asp Val Asn Asp Leu Asp Thr		
35 40 45		
Asp Ser Phe Leu Gly Gly Leu Lys Trp Cys Ser Asp Gln Ser Glu Ile		
50 55 60		
Ile Ser Asn Gln Tyr Asn Asn Glu Pro Ser Asn Ile Phe Glu Lys Ile		
65 70 75 80		
Asp Glu Glu Asn Glu Ala Asn Leu Leu Ala Val Leu Thr Glu Thr Leu		
85 90 95		
Asp Ser Leu Pro Val Asp Glu Asp Gly Leu Pro Ser Phe Asp Ala Leu		
100 105 110		
Thr Asp Gly Asp Val Thr Thr Asp Asn Glu Ala Ser Pro Ser Ser Met		
115 120 125		
Pro Asp Gly Thr Pro Pro Pro Gln Glu Ala Glu Glu Pro Ser Leu Leu		
130 135 140		
Lys Lys Leu Leu Leu Ala Pro Ala Asn Thr Gln Leu Ser Tyr Asn Glu		
145 150 155 160		
Cys Ser Gly Leu Ser Thr Gln Asn His Ala Asn His Asn His Arg Ile		
165 170 175		
Arg Thr Asn Pro Ala Ile Val Lys Thr Glu Asn Ser Trp Ser Asn Lys		
180 185 190		
Ala Lys Ser Ile Cys Gln Gln Gln Lys Pro Gln Arg Arg Pro Cys Ser		
195 200 205		
Glu Leu Leu Lys Tyr Leu Thr Thr Asn Asp Asp Pro Pro His Thr Lys		
210 215 220		
Pro Thr Glu Asn Arg Asn Ser Ser Arg Asp Lys Cys Thr Ser Lys Lys		
225 230 235 240		
Lys Ser His Thr Gln Ser Gln Ser Gln His Leu Gln Ala Lys Pro Thr		

				245					250					255		
Thr	Leu	Ser	Leu	Pro	Leu	Thr	Pro	Glu	Ser	Pro	Asn	Asp	Pro	Lys	Gly	
			260					265					270			
Ser	Pro	Phe	Glu	Asn	Lys	Thr	Ile	Glu	Arg	Thr	Leu	Ser	Val	Glu	Leu	
		275					280					285				
Ser	Gly	Thr	Ala	Gly	Val	Lys	Thr	Asn	Leu	Ile	Ser	Lys				
	290					295					300					
<210>	48															
<211>	671															
<212>	PRT															
<213>	智人 (Homo sapiens)															
<400>	48															
Met	Pro	Asp	Gly	Thr	Pro	Pro	Pro	Gln	Glu	Ala	Glu	Glu	Pro	Ser	Leu	
1			5					10					15			
Leu	Lys	Lys	Leu	Leu	Leu	Ala	Pro	Ala	Asn	Thr	Gln	Leu	Ser	Tyr	Asn	
			20					25					30			
Glu	Cys	Ser	Gly	Leu	Ser	Thr	Gln	Asn	His	Ala	Asn	His	Asn	His	Arg	
		35					40					45				
Ile	Arg	Thr	Asn	Pro	Ala	Ile	Val	Lys	Thr	Glu	Asn	Ser	Trp	Ser	Asn	
	50					55					60					
Lys	Ala	Lys	Ser	Ile	Cys	Gln	Gln	Gln	Lys	Pro	Gln	Arg	Arg	Pro	Cys	
65			70					75					80			
Ser	Glu	Leu	Leu	Lys	Tyr	Leu	Thr	Thr	Asn	Asp	Asp	Pro	Pro	His	Thr	
			85					90					95			
Lys	Pro	Thr	Glu	Asn	Arg	Asn	Ser	Ser	Arg	Asp	Lys	Cys	Thr	Ser	Lys	
			100					105					110			
Lys	Lys	Ser	His	Thr	Gln	Ser	Gln	Ser	Gln	His	Leu	Gln	Ala	Lys	Pro	
		115					120					125				
Thr	Thr	Leu	Ser	Leu	Pro	Leu	Thr	Pro	Glu	Ser	Pro	Asn	Asp	Pro	Lys	
	130					135					140					
Gly	Ser	Pro	Phe	Glu	Asn	Lys	Thr	Ile	Glu	Arg	Thr	Leu	Ser	Val	Glu	
145			150					155					160			
Leu	Ser	Gly	Thr	Ala	Gly	Leu	Thr	Pro	Pro	Thr	Thr	Pro	Pro	His	Lys	
			165					170					175			
Ala	Asn	Gln	Asp	Asn	Pro	Phe	Arg	Ala	Ser	Pro	Lys	Leu	Lys	Ser	Ser	
	180					185					190					
Cys	Lys	Thr	Val	Val	Pro	Pro	Pro	Ser	Lys	Lys	Pro	Arg	Tyr	Ser	Glu	
	195					200					205					
Ser	Ser	Gly	Thr	Gln	Gly	Asn	Asn	Ser	Thr	Lys	Lys	Gly	Pro	Glu	Gln	

210	215	220
Ser Glu Leu Tyr Ala Gln Leu Ser Lys Ser Ser Val Leu Thr Gly Gly		
225	230	235
His Glu Glu Arg Lys Thr Lys Arg Pro Ser Leu Arg Leu Phe Gly Asp		240
245	250	255
His Asp Tyr Cys Gln Ser Ile Asn Ser Lys Thr Glu Ile Leu Ile Asn		
260	265	270
Ile Ser Gln Glu Leu Gln Asp Ser Arg Gln Leu Glu Asn Lys Asp Val		
275	280	285
Ser Ser Asp Trp Gln Gly Gln Ile Cys Ser Ser Thr Asp Ser Asp Gln		
290	295	300
Cys Tyr Leu Arg Glu Thr Leu Glu Ala Ser Lys Gln Val Ser Pro Cys		
305	310	315
Ser Thr Arg Lys Gln Leu Gln Asp Gln Glu Ile Arg Ala Glu Leu Asn		
325	330	335
Lys His Phe Gly His Pro Ser Gln Ala Val Phe Asp Asp Glu Ala Asp		
340	345	350
Lys Thr Gly Glu Leu Arg Asp Ser Asp Phe Ser Asn Glu Gln Phe Ser		
355	360	365
Lys Leu Pro Met Phe Ile Asn Ser Gly Leu Ala Met Asp Gly Leu Phe		
370	375	380
Asp Asp Ser Glu Asp Glu Ser Asp Lys Leu Ser Tyr Pro Trp Asp Gly		
385	390	395
Thr Gln Ser Tyr Ser Leu Phe Asn Val Ser Pro Ser Cys Ser Ser Phe		
405	410	415
Asn Ser Pro Cys Arg Asp Ser Val Ser Pro Pro Lys Ser Leu Phe Ser		
420	425	430
Gln Arg Pro Gln Arg Met Arg Ser Arg Ser Arg Ser Phe Ser Arg His		
435	440	445
Arg Ser Cys Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Ser Arg Ser Arg Ser Pro		
450	455	460
Gly Ser Arg Ser Ser Ser Arg Ser Cys Tyr Tyr Tyr Glu Ser Ser His		
465	470	475
Tyr Arg His Arg Thr His Arg Asn Ser Pro Leu Tyr Val Arg Ser Arg		
485	490	495
Ser Arg Ser Pro Tyr Ser Arg Arg Pro Arg Tyr Asp Ser Tyr Glu Glu		
500	505	510
Tyr Gln His Glu Arg Leu Lys Arg Glu Glu Tyr Arg Arg Glu Tyr Glu		
515	520	525

Lys Arg Glu Ser Glu Arg Ala Lys Gln Arg Glu Arg Gln Arg Gln Lys
530 535 540
Ala Ile Glu Glu Arg Arg Val Ile Tyr Val Gly Lys Ile Arg Pro Asp
545 550 555 560
Thr Thr Arg Thr Glu Leu Arg Asp Arg Phe Glu Val Phe Gly Glu Ile
565 570 575
Glu Glu Cys Thr Val Asn Leu Arg Asp Asp Gly Asp Ser Tyr Gly Phe
580 585 590
Ile Thr Tyr Arg Tyr Thr Cys Asp Ala Phe Ala Ala Leu Glu Asn Gly
595 600 605
Tyr Thr Leu Arg Arg Ser Asn Glu Thr Asp Phe Glu Leu Tyr Phe Cys
610 615 620
Gly Arg Lys Gln Phe Phe Lys Ser Asn Tyr Ala Asp Leu Asp Ser Asn
625 630 635 640
Ser Asp Asp Phe Asp Pro Ala Ser Thr Lys Ser Lys Tyr Asp Ser Leu
645 650 655
Asp Phe Asp Ser Leu Leu Lys Glu Ala Gln Arg Ser Leu Arg Arg
660 665 670

<210> 49

<211> 7

<212> RNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 49

ucauaca

7

<210> 50

<211> 7

<212> RNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 寡核苷酸

<400> 50

gaggcug

7

<210> 51

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 寡核苷酸	
<400> 51	
cgaggtcgac ttcctaga	18
<210> 52	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 52	
catacacggc tctcctctct aaa	23
<210> 53	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 53	
tcctgtggca tccatgaaac	20
<210> 54	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 54	
caatgcctgg gtacatggtg	20
<210> 55	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 55	
ccaagtggag gagcagct	18
<210> 56	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	

<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 56	
gacaaggtag aacccatcgg	20
<210> 57	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 57	
ttagacacat gggataacga gg	22
<210> 58	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 58	
tttttgctgt gaggcccgga g	21
<210> 59	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 59	
cagcctagca gcacgtaaat	20
<210> 60	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 60	
gaatcgagca ccagttacg	19
<210> 61	
<211> 22	
<212> DNA	

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 61	
ccttccctga aggttcctcc tt	22
<210> 62	
<211> 7	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 62	
tgtatga	7
<210> 63	
<211> 8	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 63	
gtgtatga	8
<210> 64	
<211> 9	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 64	
cgtgtatga	9
<210> 65	
<211> 10	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 65	
ccgtgtatga	10
<210> 66	
<211> 11	

<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 66	
gccgtgtatg a	11
<210> 67	
<211> 12	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 67	
agccgtgtat ga	12
<210> 68	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 68	
gagccgtgta tga	13
<210> 69	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 69	
agagccgtgt atga	14
<210> 70	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 70	
gagagccgtg tatga	15
<210> 71	

<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 71	
ggagagccgt gtatga	16
<210> 72	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 72	
aggagagccg tgtatga	17
<210> 73	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 73	
gaggagagcc gtgtatga	18
<210> 74	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 74	
agaggagagc cgtgtatga	19
<210> 75	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 75	
gagaggagag ccgtgtatga	20

<210>	76	
<211>	8	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	76	
tgtatgac		8
<210>	77	
<211>	9	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	77	
gtgtatgac		9
<210>	78	
<211>	10	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	78	
cgtgtatgac		10
<210>	79	
<211>	11	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	79	
ccgtgtatga c		11
<210>	80	
<211>	12	
<212>	DNA	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	寡核苷酸	
<400>	80	

gccgtgtatg ac	12
<210> 81	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 81	
agccgtgtat gac	13
<210> 82	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 82	
gagccgtgta tgac	14
<210> 83	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 83	
agagccgtgt atgac	15
<210> 84	
<211> 16	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 84	
gagagccgtg tatgac	16
<210> 85	
<211> 17	
<212> DNA	
<213> 人工序列(Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	

<400> 85	
ggagagccgt gtatgac	17
<210> 86	
<211> 18	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 86	
aggagagccg tgtatgac	18
<210> 87	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 87	
gaggagagcc gtgtatgac	19
<210> 88	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 88	
agaggagagc cgtgtatgac	20
<210> 89	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	
<223> 寡核苷酸	
<400> 89	
gagaggagag ccgtgtatga c	21
<210> 90	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>	

<223> 寡核苷酸

<400> 90

agagaggaga gccgtgtatg ac

22

<210> 91

<211> 640

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> NRG1异型体1

<400> 91

```

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

```

225	230	235	240
Lys Arg Val Leu Thr	Ile Thr Gly Ile Cys	Ile Ala Leu Leu Val	Val
	245	250	255
Gly Ile Met Cys Val	Val Ala Tyr Cys Lys	Thr Lys Lys Gln Arg	Lys
	260	265	270
Lys Leu His Asp Arg	Leu Arg Gln Ser Leu Arg	Ser Glu Arg Asn Asn	
	275	280	285
Met Met Asn Ile Ala	Asn Gly Pro His His	Pro Asn Pro Pro Pro	Glu
	290	295	300
Asn Val Gln Leu Val	Asn Gln Tyr Val Ser	Lys Asn Val Ile Ser	Ser
305	310	315	320
Glu His Ile Val Glu	Arg Glu Ala Glu Thr	Ser Phe Ser Thr Ser	His
	325	330	335
Tyr Thr Ser Thr Ala	His His Ser Thr Thr	Val Thr Gln Thr Pro	Ser
	340	345	350
His Ser Trp Ser Asn	Gly His Thr Glu Ser	Ile Leu Ser Glu Ser	His
	355	360	365
Ser Val Ile Val Met	Ser Ser Val Glu Asn	Ser Arg His Ser Ser	Pro
	370	375	380
Thr Gly Gly Pro Arg	Gly Arg Leu Asn Gly	Thr Gly Gly Pro Arg	Glu
385	390	395	400
Cys Asn Ser Phe Leu	Arg His Ala Arg Glu	Thr Pro Asp Ser Tyr	Arg
	405	410	415
Asp Ser Pro His Ser	Glu Arg Tyr Val Ser	Ala Met Thr Thr Pro	Ala
	420	425	430
Arg Met Ser Pro Val	Asp Phe His Thr Pro	Ser Ser Pro Lys Ser	Pro
	435	440	445
Pro Ser Glu Met Ser	Pro Pro Val Ser Ser	Met Thr Val Ser Met	Pro
	450	455	460
Ser Met Ala Val Ser	Pro Phe Met Glu Glu	Glu Arg Pro Leu Leu	Leu
465	470	475	480
Val Thr Pro Pro Arg	Leu Arg Glu Lys Lys	Phe Asp His His Pro	Gln
	485	490	495
Gln Phe Ser Ser Phe	His His Asn Pro Ala	His Asp Ser Asn Ser	Leu
	500	505	510
Pro Ala Ser Pro Leu	Arg Ile Val Glu Asp	Glu Glu Tyr Glu Thr	Thr
	515	520	525
Gln Glu Tyr Glu Pro	Ala Gln Glu Pro Val	Lys Lys Leu Ala Asn	Ser
	530	535	540

Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu			
545	550	555	560
Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu			
	565	570	575
Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln			
	580	585	590
Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala			
	595	600	605
Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile			
610	615	620	
Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val			
625	630	635	640
<210>	92		
<211>	648		
<212>	PRT		
<213>	人工序列(Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	NRG1异型体2		
<400>	92		
Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys			
1	5	10	15
Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser			
	20	25	30
Pro Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala			
	35	40	45
Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser			
	50	55	60
Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys			
65	70	75	80
Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu			
	85	90	95
Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys			
	100	105	110
Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr			
	115	120	125
Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu			
	130	135	140
Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr			
145	150	155	160

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

465	470	475	480
Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro Pro Arg Leu Arg Glu			
	485	490	495
Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser Ser Phe His His Asn			
	500	505	510
Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser Pro Leu Arg Ile Val			
	515	520	525
Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr Glu Pro Ala Gln Glu			
	530	535	540
Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala Lys Arg Thr Lys Pro			
545	550	555	560
Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp Ser Asn Thr Ser Ser			
	565	570	575
Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp Glu Arg Val Gly Glu			
	580	585	590
Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu Ala Ala Ser Leu Glu			
	595	600	605
Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala Asp Ser Arg Thr Asn Pro Ala Gly			
	610	615	620
Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile Gln Ala Arg Leu Ser Ser Val Ile			
625	630	635	640
Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val			
	645		

<210> 93

<211> 462

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> NRG1异型体3

<400> 93

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

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

Thr Gly Gly Pro Arg Gly Arg Leu Asn Gly Thr Gly Gly Pro Arg Glu			
385	390	395	400
Cys Asn Ser Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg			
	405	410	415
Asp Ser Pro His Ser Glu Arg His Asn Leu Ile Ala Glu Leu Arg Arg			
	420	425	430
Asn Lys Ala His Arg Ser Lys Cys Met Gln Ile Gln Leu Ser Ala Thr			
	435	440	445
His Leu Arg Ser Ser Ser Ile Pro His Leu Gly Phe Ile Leu			
	450	455	460
<210>	94		
<211>	247		
<212>	PRT		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	NRG1异型体4		
<400>	94		
Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys			
1	5	10	15
Glu Arg Gly Ser Gly Lys Lys Pro Glu Ser Ala Ala Gly Ser Gln Ser			
	20	25	30
Pro Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala			
	35	40	45
Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser			
	50	55	60
Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys			
65	70	75	80
Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu			
	85	90	95
Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys			
	100	105	110
Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr			
	115	120	125
Ile Val Glu Ser Asn Glu Ile Ile Thr Gly Met Pro Ala Ser Thr Glu			
	130	135	140
Gly Ala Tyr Val Ser Ser Glu Ser Pro Ile Arg Ile Ser Val Ser Thr			
145	150	155	160
Glu Gly Ala Asn Thr Ser Ser Ser Thr Ser Thr Ser Thr Thr Gly Thr			
	165	170	175

Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys Thr Phe Cys Val Asn
 180 185 190
 Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser Asn Pro Ser Arg Tyr
 195 200 205
 Leu Cys Lys Cys Gln Pro Gly Phe Thr Gly Ala Arg Cys Thr Glu Asn
 210 215 220
 Val Pro Met Lys Val Gln Asn Gln Glu Ser Ala Gln Met Ser Leu Leu
 225 230 235 240
 Val Ile Ala Ala Lys Thr Thr
 245

<210> 95

<211> 645

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> NRG1异型体6

<400> 95

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

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

				485					490					495			
Asp	His	His	Pro	Gln	Gln	Phe	Ser	Ser	Phe	His	His	Asn	Pro	Ala	His		
			500					505					510				
Asp	Ser	Asn	Ser	Leu	Pro	Ala	Ser	Pro	Leu	Arg	Ile	Val	Glu	Asp	Glu		
		515					520					525					
Glu	Tyr	Glu	Thr	Thr	Gln	Glu	Tyr	Glu	Pro	Ala	Gln	Glu	Pro	Val	Lys		
	530					535					540						
Lys	Leu	Ala	Asn	Ser	Arg	Arg	Ala	Lys	Arg	Thr	Lys	Pro	Asn	Gly	His		
545					550					555					560		
Ile	Ala	Asn	Arg	Leu	Glu	Val	Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser		
			565					570					575				
Asn	Ser	Glu	Ser	Glu	Thr	Glu	Asp	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro		
		580					585					590					
Phe	Leu	Gly	Ile	Gln	Asn	Pro	Leu	Ala	Ala	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr	Pro		
	595					600					605						
Ala	Phe	Arg	Leu	Ala	Asp	Ser	Arg	Thr	Asn	Pro	Ala	Gly	Arg	Phe	Ser		
	610					615					620						
Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Gln	Ala	Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Asn	Gln		
625					630					635					640		
Asp	Pro	Ile	Ala	Val													
			645														
<210>	96																
<211>	637																
<212>	PRT																
<213>	人工序列(Artificial Sequence)																
<220>																	
<223>	NRG1异型体7																
<400>	96																
Met	Ser	Glu	Arg	Lys	Glu	Gly	Arg	Gly	Lys	Gly	Lys	Gly	Lys	Lys	Lys		
1				5					10					15			
Glu	Arg	Gly	Ser	Gly	Lys	Lys	Pro	Glu	Ser	Ala	Ala	Gly	Ser	Gln	Ser		
			20					25					30				
Pro	Ala	Leu	Pro	Pro	Arg	Leu	Lys	Glu	Met	Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala		
	35					40					45						
Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	Val	Leu	Arg	Cys	Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser		
	50					55					60						
Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	Trp	Phe	Lys	Asn	Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys		
65					70					75					80		
Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	Ile	Lys	Ile	Gln	Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu		

				85					90					95			
Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys		
				100					105					110			
Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr		
				115					120					125			
Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Glu	Ile	Ile	Thr	Gly	Met	Pro	Ala	Ser	Thr	Glu		
				130					135					140			
Gly	Ala	Tyr	Val	Ser	Ser	Glu	Ser	Pro	Ile	Arg	Ile	Ser	Val	Ser	Thr		
145						150				155					160		
Glu	Gly	Ala	Asn	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Gly	Thr		
				165					170					175			
Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys	Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn		
				180					185					190			
Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp	Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr		
				195					200					205			
Leu	Cys	Lys	Cys	Pro	Asn	Glu	Phe	Thr	Gly	Asp	Arg	Cys	Gln	Asn	Tyr		
				210					215					220			
Val	Met	Ala	Ser	Phe	Tyr	Lys	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr	Gln	Lys	Arg	Val		
225						230				235					240		
Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile	Cys	Ile	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Gly	Ile	Met		
				245					250					255			
Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys	Lys	Thr	Lys	Lys	Gln	Arg	Lys	Lys	Leu	His		
				260					265					270			
Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Arg	Asn	Asn	Met	Met	Asn		
				275					280					285			
Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His	His	Pro	Asn	Pro	Pro	Pro	Glu	Asn	Val	Gln		
				290					295					300			
Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Lys	Asn	Val	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ile		
305						310				315					320		
Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Ser	Phe	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ser		
				325					330					335			
Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	Trp		
				340					345					350			
Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Val	Ile		
				355					360					365			
Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	Arg	His	Ser	Ser	Pro	Thr	Gly	Gly		
				370					375					380			
Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn	Ser		
385						390				395					400		

Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro
 405 410 415
 His Ser Glu Arg Tyr Val Ser Ala Met Thr Thr Pro Ala Arg Met Ser
 420 425 430
 Pro Val Asp Phe His Thr Pro Ser Ser Pro Lys Ser Pro Pro Ser Glu
 435 440 445
 Met Ser Pro Pro Val Ser Ser Met Thr Val Ser Met Pro Ser Met Ala
 450 455 460
 Val Ser Pro Phe Met Glu Glu Glu Arg Pro Leu Leu Leu Val Thr Pro
 465 470 475 480
 Pro Arg Leu Arg Glu Lys Lys Phe Asp His His Pro Gln Gln Phe Ser
 485 490 495
 Ser Phe His His Asn Pro Ala His Asp Ser Asn Ser Leu Pro Ala Ser
 500 505 510
 Pro Leu Arg Ile Val Glu Asp Glu Glu Tyr Glu Thr Thr Gln Glu Tyr
 515 520 525
 Glu Pro Ala Gln Glu Pro Val Lys Lys Leu Ala Asn Ser Arg Arg Ala
 530 535 540
 Lys Arg Thr Lys Pro Asn Gly His Ile Ala Asn Arg Leu Glu Val Asp
 545 550 555 560
 Ser Asn Thr Ser Ser Gln Ser Ser Asn Ser Glu Ser Glu Thr Glu Asp
 565 570 575
 Glu Arg Val Gly Glu Asp Thr Pro Phe Leu Gly Ile Gln Asn Pro Leu
 580 585 590
 Ala Ala Ser Leu Glu Ala Thr Pro Ala Phe Arg Leu Ala Asp Ser Arg
 595 600 605
 Thr Asn Pro Ala Gly Arg Phe Ser Thr Gln Glu Glu Ile Gln Ala Arg
 610 615 620
 Leu Ser Ser Val Ile Ala Asn Gln Asp Pro Ile Ala Val
 625 630 635
 <210> 97
 <211> 241
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> NRG1异型体8
 <400> 97
 Met Ser Glu Arg Lys Glu Gly Arg Gly Lys Gly Lys Gly Lys Lys Lys
 1 5 10 15

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

<210> 98

<211> 422

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> NRG1异型体9

<400> 98

Met Arg Trp Arg Arg Ala Pro Arg Arg Ser Gly Arg Pro Gly Pro Arg
 1 5 10 15
 Ala Gln Arg Pro Gly Ser Ala Ala Arg Ser Ser Pro Pro Leu Pro Leu

20	25	30
Leu Pro Leu Leu Leu Leu Leu Gly Thr Ala Ala Leu Ala Pro Gly Ala		
35	40	45
Ala Ala Gly Asn Glu Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ser Val Cys Tyr Ser		
50	55	60
Ser Pro Pro Ser Val Gly Ser Val Gln Glu Leu Ala Gln Arg Ala Ala		
65	70	75
Val Val Ile Glu Gly Lys Val His Pro Gln Arg Arg Gln Gln Gly Ala		
85	90	95
Leu Asp Arg Lys Ala Ala Ala Ala Ala Gly Glu Ala Gly Ala Trp Gly		
100	105	110
Gly Asp Arg Glu Pro Pro Ala Ala Gly Pro Arg Ala Leu Gly Pro Pro		
115	120	125
Ala Glu Glu Pro Leu Leu Ala Ala Asn Gly Thr Val Pro Ser Trp Pro		
130	135	140
Thr Ala Pro Val Pro Ser Ala Gly Glu Pro Gly Glu Glu Ala Pro Tyr		
145	150	155
Leu Val Lys Val His Gln Val Trp Ala Val Lys Ala Gly Gly Leu Lys		
165	170	175
Lys Asp Ser Leu Leu Thr Val Arg Leu Gly Thr Trp Gly His Pro Ala		
180	185	190
Phe Pro Ser Cys Gly Arg Leu Lys Glu Asp Ser Arg Tyr Ile Phe Phe		
195	200	205
Met Glu Pro Asp Ala Asn Ser Thr Ser Arg Ala Pro Ala Ala Phe Arg		
210	215	220
Ala Ser Phe Pro Pro Leu Glu Thr Gly Arg Asn Leu Lys Lys Glu Val		
225	230	235
Ser Arg Val Leu Cys Lys Arg Cys Ala Leu Pro Pro Arg Leu Lys Glu		
245	250	255
Met Lys Ser Gln Glu Ser Ala Ala Gly Ser Lys Leu Val Leu Arg Cys		
260	265	270
Glu Thr Ser Ser Glu Tyr Ser Ser Leu Arg Phe Lys Trp Phe Lys Asn		
275	280	285
Gly Asn Glu Leu Asn Arg Lys Asn Lys Pro Gln Asn Ile Lys Ile Gln		
290	295	300
Lys Lys Pro Gly Lys Ser Glu Leu Arg Ile Asn Lys Ala Ser Leu Ala		
305	310	315
Asp Ser Gly Glu Tyr Met Cys Lys Val Ile Ser Lys Leu Gly Asn Asp		
325	330	335

Ser Ala Ser Ala Asn Ile Thr Ile Val Glu Ser Asn Ala Thr Ser Thr
 340 345 350
 Ser Thr Thr Gly Thr Ser His Leu Val Lys Cys Ala Glu Lys Glu Lys
 355 360 365
 Thr Phe Cys Val Asn Gly Gly Glu Cys Phe Met Val Lys Asp Leu Ser
 370 375 380
 Asn Pro Ser Arg Tyr Leu Cys Lys Cys Pro Asn Glu Phe Thr Gly Asp
 385 390 395 400
 Arg Cys Gln Asn Tyr Val Met Ala Ser Phe Tyr Ser Thr Ser Thr Pro
 405 410 415
 Phe Leu Ser Leu Pro Glu
 420

<210> 99

<211> 296

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> NRG1异型体10

<400> 99

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

Lys	Ala	Val	Val	Ser	Phe	Glu	Pro	Ser	Ala	Ala	Pro	Thr	Pro	Lys	Asn	
						165					170				175	
Arg	Ile	Phe	Ala	Phe	Ser	Phe	Leu	Pro	Ser	Thr	Ala	Pro	Ser	Phe	Pro	
						180					185				190	
Ser	Pro	Thr	Arg	Asn	Pro	Glu	Val	Arg	Thr	Pro	Lys	Ser	Ala	Thr	Gln	
						195					200				205	
Pro	Gln	Thr	Thr	Glu	Thr	Asn	Leu	Gln	Thr	Ala	Pro	Lys	Leu	Ser	Thr	
						210									215	
Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Gly	Thr	Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys	
						225									230	
Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn	Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp	
						235									240	
						245									250	
Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr	Leu	Cys	Lys	Cys	Pro	Asn	Glu	Phe	Thr	
						255									260	
Gly	Asp	Arg	Cys	Gln	Asn	Tyr	Val	Met	Ala	Ser	Phe	Tyr	Ser	Thr	Ser	
						265									270	
						275									280	
						285										
Thr	Pro	Phe	Leu	Ser	Leu	Pro	Glu									
						290									295	
<210>	100															
<211>	590															
<212>	PRT															
<213>	人工序列(Artificial Sequence)															
<220>																
<223>	NRG1异型体11															
<400>	100															
Met	Gly	Lys	Gly	Arg	Ala	Gly	Arg	Val	Gly	Thr	Thr	Ala	Leu	Pro	Pro	
1					5				10					15		
Arg	Leu	Lys	Glu	Met	Lys	Ser	Gln	Glu	Ser	Ala	Ala	Gly	Ser	Lys	Leu	
					20				25					30		
Val	Leu	Arg	Cys	Glu	Thr	Ser	Ser	Glu	Tyr	Ser	Ser	Leu	Arg	Phe	Lys	
					35				40					45		
Trp	Phe	Lys	Asn	Gly	Asn	Glu	Leu	Asn	Arg	Lys	Asn	Lys	Pro	Gln	Asn	
					50				55					60		
Ile	Lys	Ile	Gln	Lys	Lys	Pro	Gly	Lys	Ser	Glu	Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	
65					70				75					80		
Ala	Ser	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys	Lys	Val	Ile	Ser	Lys	
					85				90					95		
Leu	Gly	Asn	Asp	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr	Ile	Val	Glu	Ser	Asn	
					100				105					110		

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

				420				425				430			
Pro	Pro	Arg	Leu	Arg	Glu	Lys	Lys	Phe	Asp	His	His	Pro	Gln	Gln	Phe
				435				440				445			
Ser	Ser	Phe	His	His	Asn	Pro	Ala	His	Asp	Ser	Asn	Ser	Leu	Pro	Ala
				450				455				460			
Ser	Pro	Leu	Arg	Ile	Val	Glu	Asp	Glu	Glu	Tyr	Glu	Thr	Thr	Gln	Glu
465				470				475				480			
Tyr	Glu	Pro	Ala	Gln	Glu	Pro	Val	Lys	Lys	Leu	Ala	Asn	Ser	Arg	Arg
				485				490				495			
Ala	Lys	Arg	Thr	Lys	Pro	Asn	Gly	His	Ile	Ala	Asn	Arg	Leu	Glu	Val
				500				505				510			
Asp	Ser	Asn	Thr	Ser	Ser	Gln	Ser	Ser	Asn	Ser	Glu	Ser	Glu	Thr	Glu
				515				520				525			
Asp	Glu	Arg	Val	Gly	Glu	Asp	Thr	Pro	Phe	Leu	Gly	Ile	Gln	Asn	Pro
				530				535				540			
Leu	Ala	Ala	Ser	Leu	Glu	Ala	Thr	Pro	Ala	Phe	Arg	Leu	Ala	Asp	Ser
545				550				555				560			
Arg	Thr	Asn	Pro	Ala	Gly	Arg	Phe	Ser	Thr	Gln	Glu	Glu	Ile	Gln	Ala
				565				570				575			
Arg	Leu	Ser	Ser	Val	Ile	Ala	Asn	Gln	Asp	Pro	Ile	Ala	Val		
				580				585				590			

⟨210⟩ 101

 $\langle 211 \rangle$ 420

⟨212⟩ PRT

〈213〉 人工序列 (Artificial Sequence)

 $\langle 220 \rangle$

〈223〉 NRG1异型体12

〈400〉 101

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

85							90							95						
Leu	Arg	Ile	Asn	Lys	Ala	Ser	Leu	Ala	Asp	Ser	Gly	Glu	Tyr	Met	Cys					
100							105							110						
Lys	Val	Ile	Ser	Lys	Leu	Gly	Asn	Asp	Ser	Ala	Ser	Ala	Asn	Ile	Thr					
115							120							125						
Ile	Val	Glu	Ser	Asn	Glu	Ile	Ile	Thr	Gly	Met	Pro	Ala	Ser	Thr	Glu					
130							135							140						
Gly	Ala	Tyr	Val	Ser	Ser	Glu	Ser	Pro	Ile	Arg	Ile	Ser	Val	Ser	Thr					
145							150							155						
Glu	Gly	Ala	Asn	Thr	Ser	Ser	Ser	Thr	Ser	Thr	Ser	Thr	Thr	Gly	Thr					
165							170							175						
Ser	His	Leu	Val	Lys	Cys	Ala	Glu	Lys	Glu	Lys	Thr	Phe	Cys	Val	Asn					
180							185							190						
Gly	Gly	Glu	Cys	Phe	Met	Val	Lys	Asp	Leu	Ser	Asn	Pro	Ser	Arg	Tyr					
195							200							205						
Leu	Cys	Lys	Cys	Pro	Asn	Glu	Phe	Thr	Gly	Asp	Arg	Cys	Gln	Asn	Tyr					
210							215							220						
Val	Met	Ala	Ser	Phe	Tyr	Lys	Ala	Glu	Glu	Leu	Tyr	Gln	Lys	Arg	Val					
225							230							235						
Leu	Thr	Ile	Thr	Gly	Ile	Cys	Ile	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Gly	Ile	Met					
245							250							255						
Cys	Val	Val	Ala	Tyr	Cys	Lys	Thr	Lys	Lys	Gln	Arg	Lys	Lys	Leu	His					
260							265							270						
Asp	Arg	Leu	Arg	Gln	Ser	Leu	Arg	Ser	Glu	Arg	Asn	Asn	Met	Met	Asn					
275							280							285						
Ile	Ala	Asn	Gly	Pro	His	His	Pro	Asn	Pro	Pro	Pro	Glu	Asn	Val	Gln					
290							295							300						
Leu	Val	Asn	Gln	Tyr	Val	Ser	Lys	Asn	Val	Ile	Ser	Ser	Glu	His	Ile					
305							310							315						
Val	Glu	Arg	Glu	Ala	Glu	Thr	Ser	Phe	Ser	Thr	Ser	His	Tyr	Thr	Ser					
325							330							335						
Thr	Ala	His	His	Ser	Thr	Thr	Val	Thr	Gln	Thr	Pro	Ser	His	Ser	Trp					
340							345							350						
Ser	Asn	Gly	His	Thr	Glu	Ser	Ile	Leu	Ser	Glu	Ser	His	Ser	Val	Ile					
355							360							365						
Val	Met	Ser	Ser	Val	Glu	Asn	Ser	Arg	His	Ser	Ser	Pro	Thr	Gly	Gly					
370							375							380						
Pro	Arg	Gly	Arg	Leu	Asn	Gly	Thr	Gly	Gly	Pro	Arg	Glu	Cys	Asn	Ser					
385							390							395						
														400						

Phe Leu Arg His Ala Arg Glu Thr Pro Asp Ser Tyr Arg Asp Ser Pro
 405 410 415
 His Ser Glu Arg
 420
 <210> 102
 <211> 179
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> STMN2异型体1
 <400> 102
 Met Ala Lys Thr Ala Met Ala Tyr Lys Glu Lys Met Lys Glu Leu Ser
 1 5 10 15
 Met Leu Ser Leu Ile Cys Ser Cys Phe Tyr Pro Glu Pro Arg Asn Ile
 20 25 30
 Asn Ile Tyr Thr Tyr Asp Asp Met Glu Val Lys Gln Ile Asn Lys Arg
 35 40 45
 Ala Ser Gly Gln Ala Phe Glu Leu Ile Leu Lys Pro Pro Ser Pro Ile
 50 55 60
 Ser Glu Ala Pro Arg Thr Leu Ala Ser Pro Lys Lys Lys Asp Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Glu Glu Ile Gln Lys Lys Leu Glu Ala Ala Glu Glu Arg Arg Lys
 85 90 95
 Ser Gln Glu Ala Gln Val Leu Lys Gln Leu Ala Glu Lys Arg Glu His
 100 105 110
 Glu Arg Glu Val Leu Gln Lys Ala Leu Glu Glu Asn Asn Asn Phe Ser
 115 120 125
 Lys Met Ala Glu Glu Lys Leu Ile Leu Lys Met Glu Gln Ile Lys Glu
 130 135 140
 Asn Arg Glu Ala Asn Leu Ala Ala Ile Ile Glu Arg Leu Gln Glu Lys
 145 150 155 160
 Glu Arg His Ala Ala Glu Val Arg Arg Asn Lys Glu Leu Gln Val Glu
 165 170 175
 Leu Ser Gly
 <210> 103
 <211> 187
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>

<223> STMN2异型体2

<400> 103

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

<210> 104

<211> 1477

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> NRXN1- α 异型体1a

<400> 104

Met	Gly	Thr	Ala	Leu	Leu	Gln	Arg	Gly	Gly	Cys	Phe	Leu	Leu	Cys	Leu
1				5					10					15	
Ser	Leu	Leu	Leu	Leu	Gly	Cys	Trp	Ala	Glu	Leu	Gly	Ser	Gly	Leu	Glu
			20					25					30		
Phe	Pro	Gly	Ala	Glu	Gly	Gln	Trp	Thr	Arg	Phe	Pro	Lys	Trp	Asn	Ala
		35				40						45			

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

355	360	365
Asp Val Lys Val Thr Arg Asn Leu Arg Gln His Ser Gly Ile Gly His		
370	375	380
Ala Met Val Thr Ile Ser Val Asp Gly Ile Leu Thr Thr Thr Gly Tyr		
385	390	395
Thr Gln Glu Asp Tyr Thr Met Leu Gly Ser Asp Asp Phe Phe Tyr Val		
405	410	415
Gly Gly Ser Pro Ser Thr Ala Asp Leu Pro Gly Ser Pro Val Ser Asn		
420	425	430
Asn Phe Met Gly Cys Leu Lys Glu Val Val Tyr Lys Asn Asn Asp Val		
435	440	445
Arg Leu Glu Leu Ser Arg Leu Ala Lys Gln Gly Asp Pro Lys Met Lys		
450	455	460
Ile His Gly Val Val Ala Phe Lys Cys Glu Asn Val Ala Thr Leu Asp		
465	470	475
Pro Ile Thr Phe Glu Thr Pro Glu Ser Phe Ile Ser Leu Pro Lys Trp		
485	490	495
Asn Ala Lys Lys Thr Gly Ser Ile Ser Phe Asp Phe Arg Thr Thr Glu		
500	505	510
Pro Asn Gly Leu Ile Leu Phe Ser His Gly Lys Pro Arg His Gln Lys		
515	520	525
Asp Ala Lys His Pro Gln Met Ile Lys Val Asp Phe Phe Ala Ile Glu		
530	535	540
Met Leu Asp Gly His Leu Tyr Leu Leu Leu Asp Met Gly Ser Gly Thr		
545	550	555
Ile Lys Ile Lys Ala Leu Leu Lys Lys Val Asn Asp Gly Glu Trp Tyr		
565	570	575
His Val Asp Phe Gln Arg Asp Gly Arg Ser Gly Thr Ile Ser Val Asn		
580	585	590
Thr Leu Arg Thr Pro Tyr Thr Ala Pro Gly Glu Ser Glu Ile Leu Asp		
595	600	605
Leu Asp Asp Glu Leu Tyr Leu Gly Gly Leu Pro Glu Asn Lys Ala Gly		
610	615	620
Leu Val Phe Pro Thr Glu Val Trp Thr Ala Leu Leu Asn Tyr Gly Tyr		
625	630	635
Val Gly Cys Ile Arg Asp Leu Phe Ile Asp Gly Gln Ser Lys Asp Ile		
645	650	655
Arg Gln Met Ala Glu Val Gln Ser Thr Ala Gly Val Lys Pro Ser Cys		
660	665	670

Ser	Lys	Glu	Thr	Ala	Lys	Pro	Cys	Leu	Ser	Asn	Pro	Cys	Lys	Asn	Asn
675				680				685							
Gly	Met	Cys	Arg	Asp	Gly	Trp	Asn	Arg	Tyr	Val	Cys	Asp	Cys	Ser	Gly
690				695				700							
Thr	Gly	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ser	Cys	Glu	Arg	Glu	Ala	Thr	Val	Leu	Ser
705				710				715				720			
Tyr	Asp	Gly	Ser	Met	Phe	Met	Lys	Ile	Gln	Leu	Pro	Val	Val	Met	His
				725				730				735			
Thr	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Ser	Leu	Arg	Phe	Arg	Ser	Gln	Arg	Ala	Tyr
				740				745				750			
Gly	Ile	Leu	Met	Ala	Thr	Thr	Ser	Arg	Asp	Ser	Ala	Asp	Thr	Leu	Arg
				755				760				765			
Leu	Glu	Leu	Asp	Ala	Gly	Arg	Val	Lys	Leu	Thr	Val	Asn	Leu	Asp	Cys
				770				775				780			
Ile	Arg	Ile	Asn	Cys	Asn	Ser	Ser	Lys	Gly	Pro	Glu	Thr	Leu	Phe	Ala
785				790				795				800			
Gly	Tyr	Asn	Leu	Asn	Asp	Asn	Glu	Trp	His	Thr	Val	Arg	Val	Val	Arg
				805				810				815			
Arg	Gly	Lys	Ser	Leu	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Asp	Gln	Gln	Ala	Met	Thr
				820				825				830			
Gly	Gln	Met	Ala	Gly	Asp	His	Thr	Arg	Leu	Glu	Phe	His	Asn	Ile	Glu
				835				840				845			
Thr	Gly	Ile	Ile	Thr	Glu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Ser	Ser	Val	Pro	Ser	Asn
850				855				860							
Phe	Ile	Gly	His	Leu	Gln	Ser	Leu	Thr	Phe	Asn	Gly	Met	Ala	Tyr	Ile
865				870				875				880			
Asp	Leu	Cys	Lys	Asn	Gly	Asp	Ile	Asp	Tyr	Cys	Glu	Leu	Asn	Ala	Arg
				885				890				895			
Phe	Gly	Phe	Arg	Asn	Ile	Ile	Ala	Asp	Pro	Val	Thr	Phe	Lys	Thr	Lys
				900				905				910			
Ser	Ser	Tyr	Val	Ala	Leu	Ala	Thr	Leu	Gln	Ala	Tyr	Thr	Ser	Met	His
915				920				925							
Leu	Phe	Phe	Gln	Phe	Lys	Thr	Thr	Ser	Leu	Asp	Gly	Leu	Ile	Leu	Tyr
930				935				940							
Asn	Ser	Gly	Asp	Gly	Asn	Asp	Phe	Ile	Val	Val	Glu	Leu	Val	Lys	Gly
945				950				955				960			
Tyr	Leu	His	Tyr	Val	Phe	Asp	Leu	Gly	Asn	Gly	Ala	Asn	Leu	Ile	Lys
				965				970				975			
Gly	Ser	Ser	Asn	Lys	Pro	Leu	Asn	Asp	Asn	Gln	Trp	His	Asn	Val	Met

980	985	990
Ile Ser Arg Asp Thr Ser Asn Leu	His Thr Val Lys Ile	Asp Thr Lys
995	1000	1005
Ile Thr Thr Gln Ile Thr Ala	Gly Ala Arg Asn Leu	Asp Leu Lys
1010	1015	1020
Ser Asp Leu Tyr Ile Gly Gly	Val Ala Lys Glu Thr	Tyr Lys Ser
1025	1030	1035
Leu Pro Lys Leu Val His Ala	Lys Glu Gly Phe Gln	Gly Cys Leu
1040	1045	1050
Ala Ser Val Asp Leu Asn Gly	Arg Leu Pro Asp Leu	Ile Ser Asp
1055	1060	1065
Ala Leu Phe Cys Asn Gly Gln	Ile Glu Arg Gly Cys	Glu Gly Pro
1070	1075	1080
Ser Thr Thr Cys Gln Glu Asp	Ser Cys Ser Asn Gln	Gly Val Cys
1085	1090	1095
Leu Gln Gln Trp Asp Gly Phe	Ser Cys Asp Cys Ser	Met Thr Ser
1100	1105	1110
Phe Ser Gly Pro Leu Cys Asn	Asp Pro Gly Thr Thr	Tyr Ile Phe
1115	1120	1125
Ser Lys Gly Gly Gly Gln Ile	Thr Tyr Lys Trp Pro	Pro Asn Asp
1130	1135	1140
Arg Pro Ser Thr Arg Ala Asp	Arg Leu Ala Ile Gly	Phe Ser Thr
1145	1150	1155
Val Gln Lys Glu Ala Val Leu	Val Arg Val Asp Ser	Ser Ser Gly
1160	1165	1170
Leu Gly Asp Tyr Leu Glu Leu	His Ile His Gln Gly	Lys Ile Gly
1175	1180	1185
Val Lys Phe Asn Val Gly Thr	Asp Asp Ile Ala Ile	Glu Glu Ser
1190	1195	1200
Asn Ala Ile Ile Asn Asp Gly	Lys Tyr His Val Val	Arg Phe Thr
1205	1210	1215
Arg Ser Gly Gly Asn Ala Thr	Leu Gln Val Asp Ser	Trp Pro Val
1220	1225	1230
Ile Glu Arg Tyr Pro Ala Gly	Arg Gln Leu Thr Ile	Phe Asn Ser
1235	1240	1245
Gln Ala Thr Ile Ile Ile Gly	Gly Lys Glu Gln Gly	Gln Pro Phe
1250	1255	1260
Gln Gly Gln Leu Ser Gly Leu	Tyr Tyr Asn Gly Leu	Lys Val Leu
1265	1270	1275

<210>	105
<211>	1496
<212>	PRT
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)
<220>	
<223>	NRXN1- α 异型体2a
<400>	105

134

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

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

Thr	Ala	Gly	Val	Lys	Pro	Ser	Cys	Ser	Lys	Glu	Thr	Ala	Lys	Pro	Cys
660				665				670							
Leu	Ser	Asn	Pro	Cys	Lys	Asn	Asn	Gly	Met	Cys	Arg	Asp	Gly	Trp	Asn
675				680				685							
Arg	Tyr	Val	Cys	Asp	Cys	Ser	Gly	Thr	Gly	Tyr	Leu	Gly	Arg	Ser	Cys
690				695				700							
Glu	Arg	Glu	Ala	Thr	Val	Leu	Ser	Tyr	Asp	Gly	Ser	Met	Phe	Met	Lys
705				710				715				720			
Ile	Gln	Leu	Pro	Val	Val	Met	His	Thr	Glu	Ala	Glu	Asp	Val	Ser	Leu
725				730				735							
Arg	Phe	Arg	Ser	Gln	Arg	Ala	Tyr	Gly	Ile	Leu	Met	Ala	Thr	Thr	Ser
740				745				750							
Arg	Asp	Ser	Ala	Asp	Thr	Leu	Arg	Leu	Glu	Leu	Asp	Ala	Gly	Arg	Val
755				760				765							
Lys	Leu	Thr	Val	Asn	Leu	Asp	Cys	Ile	Arg	Ile	Asn	Cys	Asn	Ser	Ser
770				775				780							
Lys	Gly	Pro	Glu	Thr	Leu	Phe	Ala	Gly	Tyr	Asn	Leu	Asn	Asp	Asn	Glu
785				790				795				800			
Trp	His	Thr	Val	Arg	Val	Val	Arg	Arg	Gly	Lys	Ser	Leu	Lys	Leu	Thr
805				810				815							
Val	Asp	Asp	Gln	Gln	Ala	Met	Thr	Gly	Gln	Met	Ala	Gly	Asp	His	Thr
820				825				830							
Arg	Leu	Glu	Phe	His	Asn	Ile	Glu	Thr	Gly	Ile	Ile	Thr	Glu	Arg	Arg
835				840				845							
Tyr	Leu	Ser	Ser	Val	Pro	Ser	Asn	Phe	Ile	Gly	His	Leu	Gln	Ser	Leu
850				855				860							
Thr	Phe	Asn	Gly	Met	Ala	Tyr	Ile	Asp	Leu	Cys	Lys	Asn	Gly	Asp	Ile
865				870				875				880			
Asp	Tyr	Cys	Glu	Leu	Asn	Ala	Arg	Phe	Gly	Phe	Arg	Asn	Ile	Ile	Ala
885				890				895							
Asp	Pro	Val	Thr	Phe	Lys	Thr	Lys	Ser	Ser	Tyr	Val	Ala	Leu	Ala	Thr
900				905				910							
Leu	Gln	Ala	Tyr	Thr	Ser	Met	His	Leu	Phe	Phe	Gln	Phe	Lys	Thr	Thr
915				920				925							
Ser	Leu	Asp	Gly	Leu	Ile	Leu	Tyr	Asn	Ser	Gly	Asp	Gly	Asn	Asp	Phe
930				935				940							
Ile	Val	Val	Glu	Leu	Val	Lys	Gly	Tyr	Leu	His	Tyr	Val	Phe	Asp	Leu
945				950				955				960			
Gly	Asn	Gly	Ala	Asn	Leu	Ile	Lys	Gly	Ser	Ser	Asn	Lys	Pro	Leu	Asn

965	970	975
Asp Asn Gln Trp His Asn Val Met Ile Ser Arg Asp Thr Ser Asn Leu		
980	985	990
His Thr Val Lys Ile Asp Thr Lys Ile Thr Thr Gln Ile Thr Ala Gly		
995	1000	1005
Ala Arg Asn Leu Asp Leu Lys Ser Asp Leu Tyr Ile Gly Gly Val		
1010	1015	1020
Ala Lys Glu Thr Tyr Lys Ser Leu Pro Lys Leu Val His Ala Lys		
1025	1030	1035
Glu Gly Phe Gln Gly Cys Leu Ala Ser Val Asp Leu Asn Gly Arg		
1040	1045	1050
Leu Pro Asp Leu Ile Ser Asp Ala Leu Phe Cys Asn Gly Gln Ile		
1055	1060	1065
Glu Arg Gly Cys Glu Gly Pro Ser Thr Thr Cys Gln Glu Asp Ser		
1070	1075	1080
Cys Ser Asn Gln Gly Val Cys Leu Gln Gln Trp Asp Gly Phe Ser		
1085	1090	1095
Cys Asp Cys Ser Met Thr Ser Phe Ser Gly Pro Leu Cys Asn Asp		
1100	1105	1110
Pro Gly Thr Thr Tyr Ile Phe Ser Lys Gly Gly Gly Gln Ile Thr		
1115	1120	1125
Tyr Lys Trp Pro Pro Asn Asp Arg Pro Ser Thr Arg Ala Asp Arg		
1130	1135	1140
Leu Ala Ile Gly Phe Ser Thr Val Gln Lys Glu Ala Val Leu Val		
1145	1150	1155
Arg Val Asp Ser Ser Ser Gly Leu Gly Asp Tyr Leu Glu Leu His		
1160	1165	1170
Ile His Gln Gly Lys Ile Gly Val Lys Phe Asn Val Gly Thr Asp		
1175	1180	1185
Asp Ile Ala Ile Glu Glu Ser Asn Ala Ile Ile Asn Asp Gly Lys		
1190	1195	1200
Tyr His Val Val Arg Phe Thr Arg Ser Gly Gly Asn Ala Thr Leu		
1205	1210	1215
Gln Val Asp Ser Trp Pro Val Ile Glu Arg Tyr Pro Ala Gly Asn		
1220	1225	1230
Asn Asp Asn Glu Arg Leu Ala Ile Ala Arg Gln Arg Ile Pro Tyr		
1235	1240	1245
Arg Leu Gly Arg Val Val Asp Glu Trp Leu Leu Asp Lys Gly Arg		
1250	1255	1260

Gln Leu Thr Ile Phe Asn Ser	Gln Ala Thr Ile Ile	Ile Gly Gly
1265	1270	1275
Lys Glu Gln Gly Gln Pro Phe	Gln Gly Gln Leu Ser	Gly Leu Tyr
1280	1285	1290
Tyr Asn Gly Leu Lys Val Leu	Asn Met Ala Ala Glu	Asn Asp Ala
1295	1300	1305
Asn Ile Ala Ile Val Gly Asn	Val Arg Leu Val Gly	Glu Val Pro
1310	1315	1320
Ser Ser Met Thr Thr Glu Ser	Thr Ala Thr Ala Met	Gln Ser Glu
1325	1330	1335
Met Ser Thr Ser Ile Met Glu	Thr Thr Thr Thr Leu	Ala Thr Ser
1340	1345	1350
Thr Ala Arg Arg Gly Lys Pro	Pro Thr Lys Glu Pro	Ile Ser Gln
1355	1360	1365
Thr Thr Asp Asp Ile Leu Val	Ala Ser Ala Glu Cys	Pro Ser Asp
1370	1375	1380
Asp Glu Asp Ile Asp Pro Cys	Glu Pro Ser Ser Ala	Asn Pro Thr
1385	1390	1395
Arg Ala Gly Gly Arg Glu Pro	Tyr Pro Gly Ser Ala	Glu Val Ile
1400	1405	1410
Arg Glu Ser Ser Ser Thr Thr	Gly Met Val Val Gly	Ile Val Ala
1415	1420	1425
Ala Ala Ala Leu Cys Ile Leu	Ile Leu Leu Tyr Ala	Met Tyr Lys
1430	1435	1440
Tyr Arg Asn Arg Asp Glu Gly	Ser Tyr His Val Asp	Glu Ser Arg
1445	1450	1455
Asn Tyr Ile Ser Asn Ser Ala	Gln Ser Asn Gly Ala	Val Val Lys
1460	1465	1470
Glu Lys Gln Pro Ser Ser Ala	Lys Ser Ser Asn Lys	Asn Lys Lys
1475	1480	1485
Asn Lys Asp Lys Glu Tyr Tyr	Val	
1490	1495	
<210>	106	
<211>	1547	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	NRXN1- α 异型体3a	
<400>	106	

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

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

Arg Ser Gly Thr Ile Ser Val Asn Thr Leu Arg Thr Pro Tyr Thr Ala			
625	630	635	640
Pro Gly Glu Ser Glu Ile Leu Asp Leu Asp Asp Glu Leu Tyr Leu Gly			
	645	650	655
Gly Leu Pro Glu Asn Lys Ala Gly Leu Val Phe Pro Thr Glu Val Trp			
	660	665	670
Thr Ala Leu Leu Asn Tyr Gly Tyr Val Gly Cys Ile Arg Asp Leu Phe			
	675	680	685
Ile Asp Gly Gln Ser Lys Asp Ile Arg Gln Met Ala Glu Val Gln Ser			
	690	695	700
Thr Ala Gly Val Lys Pro Ser Cys Ser Lys Glu Thr Ala Lys Pro Cys			
705	710	715	720
Leu Ser Asn Pro Cys Lys Asn Asn Gly Met Cys Arg Asp Gly Trp Asn			
	725	730	735
Arg Tyr Val Cys Asp Cys Ser Gly Thr Gly Tyr Leu Gly Arg Ser Cys			
	740	745	750
Glu Arg Glu Ala Thr Val Leu Ser Tyr Asp Gly Ser Met Phe Met Lys			
	755	760	765
Ile Gln Leu Pro Val Val Met His Thr Glu Ala Glu Asp Val Ser Leu			
	770	775	780
Arg Phe Arg Ser Gln Arg Ala Tyr Gly Ile Leu Met Ala Thr Thr Ser			
785	790	795	800
Arg Asp Ser Ala Asp Thr Leu Arg Leu Glu Leu Asp Ala Gly Arg Val			
	805	810	815
Lys Leu Thr Val Asn Leu Asp Cys Ile Arg Ile Asn Cys Asn Ser Ser			
	820	825	830
Lys Gly Pro Glu Thr Leu Phe Ala Gly Tyr Asn Leu Asn Asp Asn Glu			
	835	840	845
Trp His Thr Val Arg Val Val Arg Arg Gly Lys Ser Leu Lys Leu Thr			
	850	855	860
Val Asp Asp Gln Gln Ala Met Thr Gly Gln Met Ala Gly Asp His Thr			
865	870	875	880
Arg Leu Glu Phe His Asn Ile Glu Thr Gly Ile Ile Thr Glu Arg Arg			
	885	890	895
Tyr Leu Ser Ser Val Pro Ser Asn Phe Ile Gly His Leu Gln Ser Leu			
	900	905	910
Thr Phe Asn Gly Met Ala Tyr Ile Asp Leu Cys Lys Asn Gly Asp Ile			
	915	920	925
Asp Tyr Cys Glu Leu Asn Ala Arg Phe Gly Phe Arg Asn Ile Ile Ala			

930	935	940
Asp Pro Val Thr Phe Lys Thr Lys Ser Ser Tyr Val Ala Leu Ala Thr		
945	950	955
Leu Gln Ala Tyr Thr Ser Met His Leu Phe Phe Gln Phe Lys Thr Thr		
965	970	975
Ser Leu Asp Gly Leu Ile Leu Tyr Asn Ser Gly Asp Gly Asn Asp Phe		
980	985	990
Ile Val Val Glu Leu Val Lys Gly Tyr Leu His Tyr Val Phe Asp Leu		
995	1000	1005
Gly Asn Gly Ala Asn Leu Ile Lys Gly Ser Ser Asn Lys Pro Leu		
1010	1015	1020
Asn Asp Asn Gln Trp His Asn Val Met Ile Ser Arg Asp Thr Ser		
1025	1030	1035
Asn Leu His Thr Val Lys Ile Asp Thr Lys Ile Thr Thr Gln Ile		
1040	1045	1050
Thr Ala Gly Ala Arg Asn Leu Asp Leu Lys Ser Asp Leu Tyr Ile		
1055	1060	1065
Gly Gly Val Ala Lys Glu Thr Tyr Lys Ser Leu Pro Lys Leu Val		
1070	1075	1080
His Ala Lys Glu Gly Phe Gln Gly Cys Leu Ala Ser Val Asp Leu		
1085	1090	1095
Asn Gly Arg Leu Pro Asp Leu Ile Ser Asp Ala Leu Phe Cys Asn		
1100	1105	1110
Gly Gln Ile Glu Arg Gly Cys Glu Gly Pro Ser Thr Thr Cys Gln		
1115	1120	1125
Glu Asp Ser Cys Ser Asn Gln Gly Val Cys Leu Gln Gln Trp Asp		
1130	1135	1140
Gly Phe Ser Cys Asp Cys Ser Met Thr Ser Phe Ser Gly Pro Leu		
1145	1150	1155
Cys Asn Asp Pro Gly Thr Thr Tyr Ile Phe Ser Lys Gly Gly Gly		
1160	1165	1170
Gln Ile Thr Tyr Lys Trp Pro Pro Asn Asp Arg Pro Ser Thr Arg		
1175	1180	1185
Ala Asp Arg Leu Ala Ile Gly Phe Ser Thr Val Gln Lys Glu Ala		
1190	1195	1200
Val Leu Val Arg Val Asp Ser Ser Ser Gly Leu Gly Asp Tyr Leu		
1205	1210	1215
Glu Leu His Ile His Gln Gly Lys Ile Gly Val Lys Phe Asn Val		
1220	1225	1230

Gly Thr Asp Asp Ile Ala Ile Glu Glu Ser Asn Ala Ile Ile Asn		
1235	1240	1245
Asp Gly Lys Tyr His Val Val Arg Phe Thr Arg Ser Gly Gly Asn		
1250	1255	1260
Ala Thr Leu Gln Val Asp Ser Trp Pro Val Ile Glu Arg Tyr Pro		
1265	1270	1275
Ala Gly Asn Asn Asp Asn Glu Arg Leu Ala Ile Ala Arg Gln Arg		
1280	1285	1290
Ile Pro Tyr Arg Leu Gly Arg Val Val Asp Glu Trp Leu Leu Asp		
1295	1300	1305
Lys Gly Arg Gln Leu Thr Ile Phe Asn Ser Gln Ala Thr Ile Ile		
1310	1315	1320
Ile Gly Gly Lys Glu Gln Gly Gln Pro Phe Gln Gly Gln Leu Ser		
1325	1330	1335
Gly Leu Tyr Tyr Asn Gly Leu Lys Val Leu Asn Met Ala Ala Glu		
1340	1345	1350
Asn Asp Ala Asn Ile Ala Ile Val Gly Asn Val Arg Leu Val Gly		
1355	1360	1365
Glu Val Pro Ser Ser Met Thr Thr Glu Ser Thr Ala Thr Ala Met		
1370	1375	1380
Gln Ser Glu Met Ser Thr Ser Ile Met Glu Thr Thr Thr Thr Leu		
1385	1390	1395
Ala Thr Ser Thr Ala Arg Arg Gly Lys Pro Pro Thr Lys Glu Pro		
1400	1405	1410
Ile Ser Gln Thr Thr Asp Asp Ile Leu Val Ala Ser Ala Glu Cys		
1415	1420	1425
Pro Ser Asp Asp Glu Asp Ile Asp Pro Cys Glu Pro Ser Ser Gly		
1430	1435	1440
Gly Leu Ala Asn Pro Thr Arg Ala Gly Gly Arg Glu Pro Tyr Pro		
1445	1450	1455
Gly Ser Ala Glu Val Ile Arg Glu Ser Ser Ser Thr Thr Gly Met		
1460	1465	1470
Val Val Gly Ile Val Ala Ala Ala Ala Leu Cys Ile Leu Ile Leu		
1475	1480	1485
Leu Tyr Ala Met Tyr Lys Tyr Arg Asn Arg Asp Glu Gly Ser Tyr		
1490	1495	1500
His Val Asp Glu Ser Arg Asn Tyr Ile Ser Asn Ser Ala Gln Ser		
1505	1510	1515
Asn Gly Ala Val Val Lys Glu Lys Gln Pro Ser Ser Ala Lys Ser		

1520	1525	1530
Ser Asn Lys Asn Lys Lys Asn Lys Asp Lys Glu Tyr Tyr Val		
1535	1540	1545
<210> 107		
<211> 139		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> NRXN1- α 异型体4a		
<400> 107		
Met Asp Met Arg Trp His Cys Glu Asn Ser Gln Thr Thr Asp Asp Ile		
1 5 10 15		
Leu Val Ala Ser Ala Glu Cys Pro Ser Asp Asp Glu Asp Ile Asp Pro		
20 25 30		
Cys Glu Pro Ser Ser Ala Asn Pro Thr Arg Ala Gly Gly Arg Glu Pro		
35 40 45		
Tyr Pro Gly Ser Ala Glu Val Ile Arg Glu Ser Ser Ser Thr Thr Gly		
50 55 60		
Met Val Val Gly Ile Val Ala Ala Ala Leu Cys Ile Leu Ile Leu		
65 70 75 80		
Leu Tyr Ala Met Tyr Lys Tyr Arg Asn Arg Asp Glu Gly Ser Tyr His		
85 90 95		
Val Asp Glu Ser Arg Asn Tyr Ile Ser Asn Ser Ala Gln Ser Asn Gly		
100 105 110		
Ala Val Val Lys Glu Lys Gln Pro Ser Ser Ala Lys Ser Ser Asn Lys		
115 120 125		
Asn Lys Lys Asn Lys Asp Lys Glu Tyr Tyr Val		
130 135		
<210> 108		
<211> 472		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> NRXN1- β 异型体1b		
<400> 108		
Met Tyr Gln Arg Met Leu Arg Cys Gly Ala Glu Leu Gly Ser Pro Gly		
1 5 10 15		
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Arg Leu Ala		
20 25 30		

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

340	345	350
Cys Pro Ser Asp Asp Glu Asp Ile Asp Pro Cys Glu Pro Ser Ser Gly		
355	360	365
Gly Leu Ala Asn Pro Thr Arg Ala Gly Gly Arg Glu Pro Tyr Pro Gly		
370	375	380
Ser Ala Glu Val Ile Arg Glu Ser Ser Ser Thr Thr Gly Met Val Val		
385	390	395
Gly Ile Val Ala Ala Ala Ala Leu Cys Ile Leu Ile Leu Leu Tyr Ala		
405	410	415
Met Tyr Lys Tyr Arg Asn Arg Asp Glu Gly Ser Tyr His Val Asp Glu		
420	425	430
Ser Arg Asn Tyr Ile Ser Asn Ser Ala Gln Ser Asn Gly Ala Val Val		
435	440	445
Lys Glu Lys Gln Pro Ser Ser Ala Lys Ser Ser Asn Lys Asn Lys Lys		
450	455	460
Asn Lys Asp Lys Glu Tyr Tyr Val		
465	470	
<210>	109	
<211>	442	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	NRXN1-β异型体3b	
<400>	109	
Met Tyr Gln Arg Met Leu Arg Cys Gly Ala Glu Leu Gly Ser Pro Gly		
1	5	10
Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Gly Arg Leu Ala		
20	25	30
Leu Leu Trp Ile Val Pro Leu Thr Leu Ser Gly Leu Leu Gly Val Ala		
35	40	45
Trp Gly Ala Ser Ser Leu Gly Ala His His Ile His His Phe His Gly		
50	55	60
Ser Ser Lys His His Ser Val Pro Ile Ala Ile Tyr Arg Ser Pro Ala		
65	70	75
Ser Leu Arg Gly Gly His Ala Gly Thr Thr Tyr Ile Phe Ser Lys Gly		
85	90	95
Gly Gly Gln Ile Thr Tyr Lys Trp Pro Pro Asn Asp Arg Pro Ser Thr		
100	105	110
Arg Ala Asp Arg Leu Ala Ile Gly Phe Ser Thr Val Gln Lys Glu Ala		

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

Lys Lys Asn Lys Asp Lys Glu Tyr Tyr Val

435

440

<210> 110

<211> 2527

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> LRKK2蛋白

<400> 110

Met Ala Ser Gly Ser Cys Gln Gly Cys Glu Glu Asp Glu Glu Thr Leu

1

5

10

15

Lys Lys Leu Ile Val Arg Leu Asn Asn Val Gln Glu Gly Lys Gln Ile

20

25

30

Glu Thr Leu Val Gln Ile Leu Glu Asp Leu Leu Val Phe Thr Tyr Ser

35

40

45

Glu Arg Ala Ser Lys Leu Phe Gln Gly Lys Asn Ile His Val Pro Leu

50

55

60

Leu Ile Val Leu Asp Ser Tyr Met Arg Val Ala Ser Val Gln Gln Val

65

70

75

80

Gly Trp Ser Leu Leu Cys Lys Leu Ile Glu Val Cys Pro Gly Thr Met

85

90

95

Gln Ser Leu Met Gly Pro Gln Asp Val Gly Asn Asp Trp Glu Val Leu

100

105

110

Gly Val His Gln Leu Ile Leu Lys Met Leu Thr Val His Asn Ala Ser

115

120

125

Val Asn Leu Ser Val Ile Gly Leu Lys Thr Leu Asp Leu Leu Leu Thr

130

135

140

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

145

150

155

160

Met Leu Ile Phe Asp Ala Met His Ser Phe Pro Ala Asn Asp Glu Val

165

170

175

Gln Lys Leu Gly Cys Lys Ala Leu His Val Leu Phe Glu Arg Val Ser

180

185

190

Glu Glu Gln Leu Thr Glu Phe Val Glu Asn Lys Asp Tyr Met Ile Leu

195

200

205

Leu Ser Ala Leu Thr Asn Phe Lys Asp Glu Glu Glu Ile Val Leu His

210

215

220

Val Leu His Cys Leu His Ser Leu Ala Ile Pro Cys Asn Asn Val Glu

225

230

235

240

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

545	550	555	560
Lys Cys Gly Leu Lys Val Ile Ser Ser Ile Val His Phe Pro Asp Ala			
	565	570	575
Leu Glu Met Leu Ser Leu Glu Gly Ala Met Asp Ser Val Leu His Thr			
	580	585	590
Leu Gln Met Tyr Pro Asp Asp Gln Glu Ile Gln Cys Leu Gly Leu Ser			
	595	600	605
Leu Ile Gly Tyr Leu Ile Thr Lys Lys Asn Val Phe Ile Gly Thr Gly			
	610	615	620
His Leu Leu Ala Lys Ile Leu Val Ser Ser Leu Tyr Arg Phe Lys Asp			
625	630	635	640
Val Ala Glu Ile Gln Thr Lys Gly Phe Gln Thr Ile Leu Ala Ile Leu			
	645	650	655
Lys Leu Ser Ala Ser Phe Ser Lys Leu Leu Val His His Ser Phe Asp			
	660	665	670
Leu Val Ile Phe His Gln Met Ser Ser Asn Ile Met Glu Gln Lys Asp			
	675	680	685
Gln Gln Phe Leu Asn Leu Cys Cys Lys Cys Phe Ala Lys Val Ala Met			
	690	695	700
Asp Asp Tyr Leu Lys Asn Val Met Leu Glu Arg Ala Cys Asp Gln Asn			
705	710	715	720
Asn Ser Ile Met Val Glu Cys Leu Leu Leu Leu Gly Ala Asp Ala Asn			
	725	730	735
Gln Ala Lys Glu Gly Ser Ser Leu Ile Cys Gln Val Cys Glu Lys Glu			
	740	745	750
Ser Ser Pro Lys Leu Val Glu Leu Leu Leu Asn Ser Gly Ser Arg Glu			
	755	760	765
Gln Asp Val Arg Lys Ala Leu Thr Ile Ser Ile Gly Lys Gly Asp Ser			
	770	775	780
Gln Ile Ile Ser Leu Leu Leu Arg Arg Leu Ala Leu Asp Val Ala Asn			
785	790	795	800
Asn Ser Ile Cys Leu Gly Gly Phe Cys Ile Gly Lys Val Glu Pro Ser			
	805	810	815
Trp Leu Gly Pro Leu Phe Pro Asp Lys Thr Ser Asn Leu Arg Lys Gln			
	820	825	830
Thr Asn Ile Ala Ser Thr Leu Ala Arg Met Val Ile Arg Tyr Gln Met			
	835	840	845
Lys Ser Ala Val Glu Glu Gly Thr Ala Ser Gly Ser Asp Gly Asn Phe			
	850	855	860

Ser Glu Asp Val Leu Ser Lys Phe Asp Glu Trp Thr Phe Ile Pro Asp			
865	870	875	880
Ser Ser Met Asp Ser Val Phe Ala Gln Ser Asp Asp Leu Asp Ser Glu			
	885	890	895
Gly Ser Glu Gly Ser Phe Leu Val Lys Lys Lys Ser Asn Ser Ile Ser			
	900	905	910
Val Gly Glu Phe Tyr Arg Asp Ala Val Leu Gln Arg Cys Ser Pro Asn			
	915	920	925
Leu Gln Arg His Ser Asn Ser Leu Gly Pro Ile Phe Asp His Glu Asp			
	930	935	940
Leu Leu Lys Arg Lys Arg Lys Ile Leu Ser Ser Asp Asp Ser Leu Arg			
945	950	955	960
Ser Ser Lys Leu Gln Ser His Met Arg His Ser Asp Ser Ile Ser Ser			
	965	970	975
Leu Ala Ser Glu Arg Glu Tyr Ile Thr Ser Leu Asp Leu Ser Ala Asn			
	980	985	990
Glu Leu Arg Asp Ile Asp Ala Leu Ser Gln Lys Cys Cys Ile Ser Val			
	995	1000	1005
His Leu Glu His Leu Glu Lys Leu Glu Leu His Gln Asn Ala Leu			
	1010	1015	1020
Thr Ser Phe Pro Gln Gln Leu Cys Glu Thr Leu Lys Ser Leu Thr			
	1025	1030	1035
His Leu Asp Leu His Ser Asn Lys Phe Thr Ser Phe Pro Ser Tyr			
	1040	1045	1050
Leu Leu Lys Met Ser Cys Ile Ala Asn Leu Asp Val Ser Arg Asn			
	1055	1060	1065
Asp Ile Gly Pro Ser Val Val Leu Asp Pro Thr Val Lys Cys Pro			
	1070	1075	1080
Thr Leu Lys Gln Phe Asn Leu Ser Tyr Asn Gln Leu Ser Phe Val			
	1085	1090	1095
Pro Glu Asn Leu Thr Asp Val Val Glu Lys Leu Glu Gln Leu Ile			
	1100	1105	1110
Leu Glu Gly Asn Lys Ile Ser Gly Ile Cys Ser Pro Leu Arg Leu			
	1115	1120	1125
Lys Glu Leu Lys Ile Leu Asn Leu Ser Lys Asn His Ile Ser Ser			
	1130	1135	1140
Leu Ser Glu Asn Phe Leu Glu Ala Cys Pro Lys Val Glu Ser Phe			
	1145	1150	1155
Ser Ala Arg Met Asn Phe Leu Ala Ala Met Pro Phe Leu Pro Pro			

1160	1165	1170
Ser Met Thr Ile Leu Lys	Leu Ser Gln Asn Lys	Phe Ser Cys Ile
1175	1180	1185
Pro Glu Ala Ile Leu Asn	Leu Pro His Leu Arg	Ser Leu Asp Met
1190	1195	1200
Ser Ser Asn Asp Ile Gln	Tyr Leu Pro Gly Pro	Ala His Trp Lys
1205	1210	1215
Ser Leu Asn Leu Arg Glu	Leu Leu Phe Ser His	Asn Gln Ile Ser
1220	1225	1230
Ile Leu Asp Leu Ser Glu	Lys Ala Tyr Leu Trp	Ser Arg Val Glu
1235	1240	1245
Lys Leu His Leu Ser His	Asn Lys Leu Lys Glu	Ile Pro Pro Glu
1250	1255	1260
Ile Gly Cys Leu Glu Asn	Leu Thr Ser Leu Asp	Val Ser Tyr Asn
1265	1270	1275
Leu Glu Leu Arg Ser Phe	Pro Asn Glu Met Gly	Lys Leu Ser Lys
1280	1285	1290
Ile Trp Asp Leu Pro Leu	Asp Glu Leu His Leu	Asn Phe Asp Phe
1295	1300	1305
Lys His Ile Gly Cys Lys	Ala Lys Asp Ile Ile	Arg Phe Leu Gln
1310	1315	1320
Gln Arg Leu Lys Lys Ala	Val Pro Tyr Asn Arg	Met Lys Leu Met
1325	1330	1335
Ile Val Gly Asn Thr Gly	Ser Gly Lys Thr Thr	Leu Leu Gln Gln
1340	1345	1350
Leu Met Lys Thr Lys Lys	Ser Asp Leu Gly Met	Gln Ser Ala Thr
1355	1360	1365
Val Gly Ile Asp Val Lys	Asp Trp Pro Ile Gln	Ile Arg Asp Lys
1370	1375	1380
Arg Lys Arg Asp Leu Val	Leu Asn Val Trp Asp	Phe Ala Gly Arg
1385	1390	1395
Glu Glu Phe Tyr Ser Thr	His Pro His Phe Met	Thr Gln Arg Ala
1400	1405	1410
Leu Tyr Leu Ala Val Tyr	Asp Leu Ser Lys Gly	Gln Ala Glu Val
1415	1420	1425
Asp Ala Met Lys Pro Trp	Leu Phe Asn Ile Lys	Ala Arg Ala Ser
1430	1435	1440
Ser Ser Pro Val Ile Leu	Val Gly Thr His Leu	Asp Val Ser Asp
1445	1450	1455

Glu Lys	Gln Arg	Lys Ala	Cys Met	Ser Lys	Ile Thr	Lys Glu	Leu
1460			1465			1470	
Leu Asn	Lys Arg	Gly Phe	Pro Ala	Ile Arg	Asp Tyr	His Phe	Val
1475			1480			1485	
Asn Ala	Thr Glu	Glu Ser	Asp Ala	Leu Ala	Lys Leu	Arg Lys	Thr
1490			1495			1500	
Ile Ile	Asn Glu	Ser Leu	Asn Phe	Lys Ile	Arg Asp	Gln Leu	Val
1505			1510			1515	
Val Gly	Gln Leu	Ile Pro	Asp Cys	Tyr Val	Glu Leu	Glu Lys	Ile
1520			1525			1530	
Ile Leu	Ser Glu	Arg Lys	Asn Val	Pro Ile	Glu Phe	Pro Val	Ile
1535			1540			1545	
Asp Arg	Lys Arg	Leu Leu	Gln Leu	Val Arg	Glu Asn	Gln Leu	Gln
1550			1555			1560	
Leu Asp	Glu Asn	Glu Leu	Pro His	Ala Val	His Phe	Leu Asn	Glu
1565			1570			1575	
Ser Gly	Val Leu	Leu His	Phe Gln	Asp Pro	Ala Leu	Gln Leu	Ser
1580			1585			1590	
Asp Leu	Tyr Phe	Val Glu	Pro Lys	Trp Leu	Cys Lys	Ile Met	Ala
1595			1600			1605	
Gln Ile	Leu Thr	Val Lys	Val Glu	Gly Cys	Pro Lys	His Pro	Lys
1610			1615			1620	
Gly Ile	Ile Ser	Arg Arg	Asp Val	Glu Lys	Phe Leu	Ser Lys	Lys
1625			1630			1635	
Arg Lys	Phe Pro	Lys Asn	Tyr Met	Ser Gln	Tyr Phe	Lys Leu	Leu
1640			1645			1650	
Glu Lys	Phe Gln	Ile Ala	Leu Pro	Ile Gly	Glu Glu	Tyr Leu	Leu
1655			1660			1665	
Val Pro	Ser Ser	Leu Ser	Asp His	Arg Pro	Val Ile	Glu Leu	Pro
1670			1675			1680	
His Cys	Glu Asn	Ser Glu	Ile Ile	Ile Arg	Leu Tyr	Glu Met	Pro
1685			1690			1695	
Tyr Phe	Pro Met	Gly Phe	Trp Ser	Arg Leu	Ile Asn	Arg Leu	Leu
1700			1705			1710	
Glu Ile	Ser Pro	Tyr Met	Leu Ser	Gly Arg	Glu Arg	Ala Leu	Arg
1715			1720			1725	
Pro Asn	Arg Met	Tyr Trp	Arg Gln	Gly Ile	Tyr Leu	Asn Trp	Ser
1730			1735			1740	
Pro Glu	Ala Tyr	Cys Leu	Val Gly	Ser Glu	Val Leu	Asp Asn	His

1745	1750	1755
Pro Glu Ser Phe Leu Lys Ile Thr Val Pro Ser Cys Arg Lys Gly		
1760	1765	1770
Cys Ile Leu Leu Gly Gln Val Val Asp His Ile Asp Ser Leu Met		
1775	1780	1785
Glu Glu Trp Phe Pro Gly Leu Leu Glu Ile Asp Ile Cys Gly Glu		
1790	1795	1800
Gly Glu Thr Leu Leu Lys Lys Trp Ala Leu Tyr Ser Phe Asn Asp		
1805	1810	1815
Gly Glu Glu His Gln Lys Ile Leu Leu Asp Asp Leu Met Lys Lys		
1820	1825	1830
Ala Glu Glu Gly Asp Leu Leu Val Asn Pro Asp Gln Pro Arg Leu		
1835	1840	1845
Thr Ile Pro Ile Ser Gln Ile Ala Pro Asp Leu Ile Leu Ala Asp		
1850	1855	1860
Leu Pro Arg Asn Ile Met Leu Asn Asn Asp Glu Leu Glu Phe Glu		
1865	1870	1875
Gln Ala Pro Glu Phe Leu Leu Gly Asp Gly Ser Phe Gly Ser Val		
1880	1885	1890
Tyr Arg Ala Ala Tyr Glu Gly Glu Glu Val Ala Val Lys Ile Phe		
1895	1900	1905
Asn Lys His Thr Ser Leu Arg Leu Leu Arg Gln Glu Leu Val Val		
1910	1915	1920
Leu Cys His Leu His His Pro Ser Leu Ile Ser Leu Leu Ala Ala		
1925	1930	1935
Gly Ile Arg Pro Arg Met Leu Val Met Glu Leu Ala Ser Lys Gly		
1940	1945	1950
Ser Leu Asp Arg Leu Leu Gln Gln Asp Lys Ala Ser Leu Thr Arg		
1955	1960	1965
Thr Leu Gln His Arg Ile Ala Leu His Val Ala Asp Gly Leu Arg		
1970	1975	1980
Tyr Leu His Ser Ala Met Ile Ile Tyr Arg Asp Leu Lys Pro His		
1985	1990	1995
Asn Val Leu Leu Phe Thr Leu Tyr Pro Asn Ala Ala Ile Ile Ala		
2000	2005	2010
Lys Ile Ala Asp Tyr Gly Ile Ala Gln Tyr Cys Cys Arg Met Gly		
2015	2020	2025
Ile Lys Thr Ser Glu Gly Thr Pro Gly Phe Arg Ala Pro Glu Val		
2030	2035	2040

Ala Arg Gly Asn Val Ile Tyr Asn Gln Gln Ala Asp Val Tyr Ser		
2045	2050	2055
Phe Gly Leu Leu Leu Tyr Asp Ile Leu Thr Thr Gly Gly Arg Ile		
2060	2065	2070
Val Glu Gly Leu Lys Phe Pro Asn Glu Phe Asp Glu Leu Glu Ile		
2075	2080	2085
Gln Gly Lys Leu Pro Asp Pro Val Lys Glu Tyr Gly Cys Ala Pro		
2090	2095	2100
Trp Pro Met Val Glu Lys Leu Ile Lys Gln Cys Leu Lys Glu Asn		
2105	2110	2115
Pro Gln Glu Arg Pro Thr Ser Ala Gln Val Phe Asp Ile Leu Asn		
2120	2125	2130
Ser Ala Glu Leu Val Cys Leu Thr Arg Arg Ile Leu Leu Pro Lys		
2135	2140	2145
Asn Val Ile Val Glu Cys Met Val Ala Thr His His Asn Ser Arg		
2150	2155	2160
Asn Ala Ser Ile Trp Leu Gly Cys Gly His Thr Asp Arg Gly Gln		
2165	2170	2175
Leu Ser Phe Leu Asp Leu Asn Thr Glu Gly Tyr Thr Ser Glu Glu		
2180	2185	2190
Val Ala Asp Ser Arg Ile Leu Cys Leu Ala Leu Val His Leu Pro		
2195	2200	2205
Val Glu Lys Glu Ser Trp Ile Val Ser Gly Thr Gln Ser Gly Thr		
2210	2215	2220
Leu Leu Val Ile Asn Thr Glu Asp Gly Lys Lys Arg His Thr Leu		
2225	2230	2235
Glu Lys Met Thr Asp Ser Val Thr Cys Leu Tyr Cys Asn Ser Phe		
2240	2245	2250
Ser Lys Gln Ser Lys Gln Lys Asn Phe Leu Leu Val Gly Thr Ala		
2255	2260	2265
Asp Gly Lys Leu Ala Ile Phe Glu Asp Lys Thr Val Lys Leu Lys		
2270	2275	2280
Gly Ala Ala Pro Leu Lys Ile Leu Asn Ile Gly Asn Val Ser Thr		
2285	2290	2295
Pro Leu Met Cys Leu Ser Glu Ser Thr Asn Ser Thr Glu Arg Asn		
2300	2305	2310
Val Met Trp Gly Gly Cys Gly Thr Lys Ile Phe Ser Phe Ser Asn		
2315	2320	2325
Asp Phe Thr Ile Gln Lys Leu Ile Glu Thr Arg Thr Ser Gln Leu		

2330	2335	2340
Phe Ser Tyr Ala Ala Phe	Ser Asp Ser Asn Ile	Ile Thr Val Val
2345	2350	2355
Val Asp Thr Ala Leu Tyr	Ile Ala Lys Gln Asn	Ser Pro Val Val
2360	2365	2370
Glu Val Trp Asp Lys Lys	Thr Glu Lys Leu Cys	Gly Leu Ile Asp
2375	2380	2385
Cys Val His Phe Leu Arg	Glu Val Met Val Lys	Glu Asn Lys Glu
2390	2395	2400
Ser Lys His Lys Met Ser	Tyr Ser Gly Arg Val	Lys Thr Leu Cys
2405	2410	2415
Leu Gln Lys Asn Thr Ala	Leu Trp Ile Gly Thr	Gly Gly Gly His
2420	2425	2430
Ile Leu Leu Leu Asp Leu	Ser Thr Arg Arg Leu	Ile Arg Val Ile
2435	2440	2445
Tyr Asn Phe Cys Asn Ser	Val Arg Val Met Met	Thr Ala Gln Leu
2450	2455	2460
Gly Ser Leu Lys Asn Val	Met Leu Val Leu Gly	Tyr Asn Arg Lys
2465	2470	2475
Asn Thr Glu Gly Thr Gln	Lys Gln Lys Glu Ile	Gln Ser Cys Leu
2480	2485	2490
Thr Val Trp Asp Ile Asn	Leu Pro His Glu Val	Gln Asn Leu Glu
2495	2500	2505
Lys His Ile Glu Val Arg	Lys Glu Leu Ala Glu	Lys Met Arg Arg
2510	2515	2520
Thr Ser Val Glu		
2525		
<210>	111	
<211>	873	
<212>	PRT	
<213>	人工序列(Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	VLDLR异型体长	
<400>	111	
Met Gly Thr Ser Ala Leu	Trp Ala Leu Trp Leu Leu	Leu Ala Leu Cys
1	5	10
Trp Ala Pro Arg Glu Ser	Gly Ala Thr Gly Thr Gly	Arg Lys Ala Lys
20	25	30
Cys Glu Pro Ser Gln Phe	Gln Cys Thr Asn Gly Arg	Cys Ile Thr Leu

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

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

660	665	670
Phe Thr Gly Ser Glu Leu Ala Thr Leu Val Asn Asn Leu Asn Asp Ala		
675	680	685
Gln Asp Ile Ile Val Tyr His Glu Leu Val Gln Pro Ser Gly Lys Asn		
690	695	700
Trp Cys Glu Glu Asp Met Glu Asn Gly Gly Cys Glu Tyr Leu Cys Leu		
705	710	715
Pro Ala Pro Gln Ile Asn Asp His Ser Pro Lys Tyr Thr Cys Ser Cys		
725	730	735
Pro Ser Gly Tyr Asn Val Glu Glu Asn Gly Arg Asp Cys Gln Ser Thr		
740	745	750
Ala Thr Thr Val Thr Tyr Ser Glu Thr Lys Asp Thr Asn Thr Thr Glu		
755	760	765
Ile Ser Ala Thr Ser Gly Leu Val Pro Gly Gly Ile Asn Val Thr Thr		
770	775	780
Ala Val Ser Glu Val Ser Val Pro Pro Lys Gly Thr Ser Ala Ala Trp		
785	790	795
Ala Ile Leu Pro Leu Leu Leu Val Met Ala Ala Val Gly Gly Tyr		
805	810	815
Leu Met Trp Arg Asn Trp Gln His Lys Asn Met Lys Ser Met Asn Phe		
820	825	830
Asp Asn Pro Val Tyr Leu Lys Thr Thr Glu Glu Asp Leu Ser Ile Asp		
835	840	845
Ile Gly Arg His Ser Ala Ser Val Gly His Thr Tyr Pro Ala Ile Ser		
850	855	860
Val Val Ser Thr Asp Asp Asp Leu Ala		
865	870	
<210>	112	
<211>	845	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	VLDLR异型体短	
<400>	112	
Met Gly Thr Ser Ala Leu Trp Ala Leu Trp Leu Leu Leu Ala Leu Cys		
1	5	10
Trp Ala Pro Arg Glu Ser Gly Ala Thr Gly Thr Gly Arg Lys Ala Lys		
20	25	30
Cys Glu Pro Ser Gln Phe Gln Cys Thr Asn Gly Arg Cys Ile Thr Leu		

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

Lys	Glu	Cys	His	Ile	Asn	Glu	Cys	Leu	Val	Asn	Asn	Gly	Gly	Cys	Ser
355								360						365	
His	Ile	Cys	Lys	Asp	Leu	Val	Ile	Gly	Tyr	Glu	Cys	Asp	Cys	Ala	Ala
370								375						380	
Gly	Phe	Glu	Leu	Ile	Asp	Arg	Lys	Thr	Cys	Gly	Asp	Ile	Asp	Glu	Cys
385						390					395				400
Gln	Asn	Pro	Gly	Ile	Cys	Ser	Gln	Ile	Cys	Ile	Asn	Leu	Lys	Gly	Gly
				405						410					415
Tyr	Lys	Cys	Glu	Cys	Ser	Arg	Gly	Tyr	Gln	Met	Asp	Leu	Ala	Thr	Gly
			420						425					430	
Val	Cys	Lys	Ala	Val	Gly	Lys	Glu	Pro	Ser	Leu	Ile	Phe	Thr	Asn	Arg
			435						440					445	
Arg	Asp	Ile	Arg	Lys	Ile	Gly	Leu	Glu	Arg	Lys	Glu	Tyr	Ile	Gln	Leu
450						455						460			
Val	Glu	Gln	Leu	Arg	Asn	Thr	Val	Ala	Leu	Asp	Ala	Asp	Ile	Ala	Ala
465						470					475				480
Gln	Lys	Leu	Phe	Trp	Ala	Asp	Leu	Ser	Gln	Lys	Ala	Ile	Phe	Ser	Ala
				485						490					495
Ser	Ile	Asp	Asp	Lys	Val	Gly	Arg	His	Val	Lys	Met	Ile	Asp	Asn	Val
			500						505					510	
Tyr	Asn	Pro	Ala	Ala	Ile	Ala	Val	Asp	Trp	Val	Tyr	Lys	Thr	Ile	Tyr
			515						520					525	
Trp	Thr	Asp	Ala	Ala	Ser	Lys	Thr	Ile	Ser	Val	Ala	Thr	Leu	Asp	Gly
530								535						540	
Thr	Lys	Arg	Lys	Phe	Leu	Phe	Asn	Ser	Asp	Leu	Arg	Glu	Pro	Ala	Ser
545						550					555				560
Ile	Ala	Val	Asp	Pro	Leu	Ser	Gly	Phe	Val	Tyr	Trp	Ser	Asp	Trp	Gly
				565						570					575
Glu	Pro	Ala	Lys	Ile	Glu	Lys	Ala	Gly	Met	Asn	Gly	Phe	Asp	Arg	Arg
			580						585				590		
Pro	Leu	Val	Thr	Ala	Asp	Ile	Gln	Trp	Pro	Asn	Gly	Ile	Thr	Leu	Asp
			595						600					605	
Leu	Ile	Lys	Ser	Arg	Leu	Tyr	Trp	Leu	Asp	Ser	Lys	Leu	His	Met	Leu
610									615					620	
Ser	Ser	Val	Asp	Leu	Asn	Gly	Gln	Asp	Arg	Arg	Ile	Val	Leu	Lys	Ser
625						630					635				640
Leu	Glu	Phe	Leu	Ala	His	Pro	Leu	Ala	Leu	Thr	Ile	Phe	Glu	Asp	Arg
				645						650				655	
Val	Tyr	Trp	Ile	Asp	Gly	Glu	Asn	Glu	Ala	Val	Tyr	Gly	Ala	Asn	Lys

660	665	670
Phe Thr Gly Ser Glu Leu Ala Thr Leu Val Asn Asn Leu Asn Asp Ala		
675	680	685
Gln Asp Ile Ile Val Tyr His Glu Leu Val Gln Pro Ser Gly Lys Asn		
690	695	700
Trp Cys Glu Glu Asp Met Glu Asn Gly Gly Cys Glu Tyr Leu Cys Leu		
705	710	715
Pro Ala Pro Gln Ile Asn Asp His Ser Pro Lys Tyr Thr Cys Ser Cys		
725	730	735
Pro Ser Gly Tyr Asn Val Glu Glu Asn Gly Arg Asp Cys Gln Arg Ile		
740	745	750
Asn Val Thr Thr Ala Val Ser Glu Val Ser Val Pro Pro Lys Gly Thr		
755	760	765
Ser Ala Ala Trp Ala Ile Leu Pro Leu Leu Leu Leu Val Met Ala Ala		
770	775	780
Val Gly Gly Tyr Leu Met Trp Arg Asn Trp Gln His Lys Asn Met Lys		
785	790	795
Ser Met Asn Phe Asp Asn Pro Val Tyr Leu Lys Thr Thr Glu Glu Asp		
805	810	815
Leu Ser Ile Asp Ile Gly Arg His Ser Ala Ser Val Gly His Thr Tyr		
820	825	830
Pro Ala Ile Ser Val Val Ser Thr Asp Asp Asp Leu Ala		
835	840	845
<210> 113		
<211> 902		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> GRIA4异型体1		
<400> 113		
Met Arg Ile Ile Ser Arg Gln Ile Val Leu Leu Phe Ser Gly Phe Trp		
1 5 10 15		
Gly Leu Ala Met Gly Ala Phe Pro Ser Ser Val Gln Ile Gly Gly Leu		
20 25 30		
Phe Ile Arg Asn Thr Asp Gln Glu Tyr Thr Ala Phe Arg Leu Ala Ile		
35 40 45		
Phe Leu His Asn Thr Ser Pro Asn Ala Ser Glu Ala Pro Phe Asn Leu		
50 55 60		
Val Pro His Val Asp Asn Ile Glu Thr Ala Asn Ser Phe Ala Val Thr		

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

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

690	695	700
Thr Arg Thr Thr Ala Glu Gly Val Ala Arg Val Arg Lys Ser Lys Gly		
705	710	715
Lys Phe Ala Phe Leu Leu Glu Ser Thr Met Asn Glu Tyr Ile Glu Gln		720
	725	730
Arg Lys Pro Cys Asp Thr Met Lys Val Gly Gly Asn Leu Asp Ser Lys		735
	740	745
Gly Tyr Gly Val Ala Thr Pro Lys Gly Ser Ser Leu Arg Thr Pro Val		750
	755	760
Asn Leu Ala Val Leu Lys Leu Ser Glu Ala Gly Val Leu Asp Lys Leu		765
770	775	780
Lys Asn Lys Trp Trp Tyr Asp Lys Gly Glu Cys Gly Pro Lys Asp Ser		
785	790	795
Gly Ser Lys Asp Lys Thr Ser Ala Leu Ser Leu Ser Asn Val Ala Gly		
	805	810
Val Phe Tyr Ile Leu Val Gly Gly Leu Gly Leu Ala Met Leu Val Ala		815
	820	825
Leu Ile Glu Phe Cys Tyr Lys Ser Arg Ala Glu Ala Lys Arg Met Lys		
	835	840
Leu Thr Phe Ser Glu Ala Ile Arg Asn Lys Ala Arg Leu Ser Ile Thr		845
	850	855
Gly Ser Val Gly Glu Asn Gly Arg Val Leu Thr Pro Asp Cys Pro Lys		860
865	870	875
Ala Val His Thr Gly Thr Ala Ile Arg Gln Ser Ser Gly Leu Ala Val		
	885	890
		895
Ile Ala Ser Asp Leu Pro		
900		
<210>	114	
<211>	433	
<212>	PRT	
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)	
<220>		
<223>	GRIA4异型体2	
<400>	114	
Met Arg Ile Ile Ser Arg Gln Ile Val Leu Leu Phe Ser Gly Phe Trp		
1	5	10
Gly Leu Ala Met Gly Ala Phe Pro Ser Ser Val Gln Ile Gly Gly Leu		
	20	25
		30
Phe Ile Arg Asn Thr Asp Gln Glu Tyr Thr Ala Phe Arg Leu Ala Ile		

35					40					45						
Phe	Leu	His	Asn	Thr	Ser	Pro	Asn	Ala	Ser	Glu	Ala	Pro	Phe	Asn	Leu	
50					55					60						
Val	Pro	His	Val	Asp	Asn	Ile	Glu	Thr	Ala	Asn	Ser	Phe	Ala	Val	Thr	
65					70					75					80	
Asn	Ala	Phe	Cys	Ser	Gln	Tyr	Ser	Arg	Gly	Val	Phe	Ala	Ile	Phe	Gly	
85					90					95						
Leu	Tyr	Asp	Lys	Arg	Ser	Val	His	Thr	Leu	Thr	Ser	Phe	Cys	Ser	Ala	
100					105					110						
Leu	His	Ile	Ser	Leu	Ile	Thr	Pro	Ser	Phe	Pro	Thr	Glu	Gly	Glu	Ser	
115					120					125						
Gln	Phe	Val	Leu	Gln	Leu	Arg	Pro	Ser	Leu	Arg	Gly	Ala	Leu	Leu	Ser	
130					135					140						
Leu	Leu	Asp	His	Tyr	Glu	Trp	Asn	Cys	Phe	Val	Phe	Leu	Tyr	Asp	Thr	
145					150					155					160	
Asp	Arg	Gly	Tyr	Ser	Ile	Leu	Gln	Ala	Ile	Met	Glu	Lys	Ala	Gly	Gln	
165					170					175						
Asn	Gly	Trp	His	Val	Ser	Ala	Ile	Cys	Val	Glu	Asn	Phe	Asn	Asp	Val	
180					185					190						
Ser	Tyr	Arg	Gln	Leu	Leu	Glu	Glu	Leu	Asp	Arg	Arg	Gln	Glu	Lys	Lys	
195					200					205						
Phe	Val	Ile	Asp	Cys	Glu	Ile	Glu	Arg	Leu	Gln	Asn	Ile	Leu	Glu	Gln	
210					215					220						
Ile	Val	Ser	Val	Gly	Lys	His	Val	Lys	Gly	Tyr	His	Tyr	Ile	Ile	Ala	
225					230					235					240	
Asn	Leu	Gly	Phe	Lys	Asp	Ile	Ser	Leu	Glu	Arg	Phe	Ile	His	Gly	Gly	
245					250					255						
Ala	Asn	Val	Thr	Gly	Phe	Gln	Leu	Val	Asp	Phe	Asn	Thr	Pro	Met	Val	
260					265					270						
Ile	Lys	Leu	Met	Asp	Arg	Trp	Lys	Lys	Leu	Asp	Gln	Arg	Glu	Tyr	Pro	
275					280					285						
Gly	Ser	Glu	Thr	Pro	Pro	Lys	Tyr	Thr	Ser	Ala	Leu	Thr	Tyr	Asp	Gly	
290					295					300						
Val	Leu	Val	Met	Ala	Glu	Thr	Phe	Arg	Ser	Leu	Arg	Arg	Gln	Lys	Ile	
305					310					315					320	
Asp	Ile	Ser	Arg	Arg	Gly	Asn	Ala	Gly	Asp	Cys	Leu	Ala	Asn	Pro	Ala	
325					330					335						
Ala	Pro	Trp	Gly	Gln	Gly	Ile	Asp	Met	Glu	Arg	Thr	Leu	Lys	Gln	Val	
340					345					350						

Arg	Ile	Gln	Gly	Leu	Thr	Gly	Asn	Val	Gln	Phe	Asp	His	Tyr	Gly	Arg
355				360				365							
Arg	Val	Asn	Tyr	Thr	Met	Asp	Val	Phe	Glu	Leu	Lys	Ser	Thr	Gly	Pro
370				375				380							
Arg	Lys	Val	Gly	Tyr	Trp	Asn	Asp	Met	Asp	Lys	Leu	Val	Leu	Ile	Gln
385				390				395				400			
Asp	Val	Pro	Thr	Leu	Gly	Asn	Asp	Thr	Ala	Ala	Ile	Glu	Asn	Arg	Thr
				405				410				415			
Val	Val	Val	Thr	Thr	Ile	Met	Pro	Leu	Met	Lys	Asn	Pro	Ile	Leu	Arg
				420				425				430			

Asn

<210> 115

<211> 271

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> NXPH1

<400> 115

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

				165				170				175			
Asp	Leu	Ala	Gln	Gln	Thr	Val	Ile	Asp	Ala	Lys	Asp	Ser	Lys	Ser	Phe
				180				185				190			
Asn	Cys	Arg	Ile	Glu	Tyr	Glu	Lys	Val	Asp	Lys	Ala	Thr	Lys	Asn	Thr
				195				200				205			
Leu	Cys	Asn	Tyr	Asp	Pro	Ser	Lys	Thr	Cys	Tyr	Gln	Glu	Gln	Thr	Gln
				210				215				220			
Ser	His	Val	Ser	Trp	Leu	Cys	Ser	Lys	Pro	Phe	Lys	Val	Ile	Cys	Ile
225				230				235				240			
Tyr	Ile	Ser	Phe	Tyr	Ser	Thr	Asp	Tyr	Lys	Leu	Val	Gln	Lys	Val	Cys
				245				250				255			
Pro	Asp	Tyr	Asn	Tyr	His	Ser	Asp	Thr	Pro	Tyr	Phe	Pro	Ser	Gly	
				260				265				270			
<210>	116														
<211>	724														
<212>	PRT														
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)														
<220>															
<223>	PSD-95异型体1														
<400>	116														
Met	Asp	Cys	Leu	Cys	Ile	Val	Thr	Thr	Lys	Lys	Tyr	Arg	Tyr	Gln	Asp
1				5			10						15		
Glu	Asp	Thr	Pro	Pro	Leu	Glu	His	Ser	Pro	Ala	His	Leu	Pro	Asn	Gln
			20			25						30			
Ala	Asn	Ser	Pro	Pro	Val	Ile	Val	Asn	Thr	Asp	Thr	Leu	Glu	Ala	Pro
			35			40						45			
Gly	Tyr	Glu	Leu	Gln	Val	Asn	Gly	Thr	Glu	Gly	Glu	Met	Glu	Tyr	Glu
50						55						60			
Glu	Ile	Thr	Leu	Glu	Arg	Gly	Asn	Ser	Gly	Leu	Gly	Phe	Ser	Ile	Ala
65			70						75			80			
Gly	Gly	Thr	Asp	Asn	Pro	His	Ile	Gly	Asp	Asp	Pro	Ser	Ile	Phe	Ile
				85				90				95			
Thr	Lys	Ile	Ile	Pro	Gly	Gly	Ala	Ala	Ala	Gln	Asp	Gly	Arg	Leu	Arg
			100			105						110			
Val	Asn	Asp	Ser	Ile	Leu	Phe	Val	Asn	Glu	Val	Asp	Val	Arg	Glu	Val
			115			120						125			
Thr	His	Ser	Ala	Ala	Val	Glu	Ala	Leu	Lys	Glu	Ala	Gly	Ser	Ile	Val
130						135						140			
Arg	Leu	Tyr	Val	Met	Arg	Arg	Lys	Pro	Pro	Ala	Glu	Lys	Val	Met	Glu

145	150	155	160
Ile Lys Leu Ile Lys Gly Pro Lys Gly Leu Gly Phe Ser Ile Ala Gly			
	165	170	175
Gly Val Gly Asn Gln His Ile Pro Gly Asp Asn Ser Ile Tyr Val Thr			
	180	185	190
Lys Ile Ile Glu Gly Gly Ala Ala His Lys Asp Gly Arg Leu Gln Ile			
	195	200	205
Gly Asp Lys Ile Leu Ala Val Asn Ser Val Gly Leu Glu Asp Val Met			
	210	215	220
His Glu Asp Ala Val Ala Ala Leu Lys Asn Thr Tyr Asp Val Val Tyr			
225	230	235	240
Leu Lys Val Ala Lys Pro Ser Asn Ala Tyr Leu Ser Asp Ser Tyr Ala			
	245	250	255
Pro Pro Asp Ile Thr Thr Ser Tyr Ser Gln His Leu Asp Asn Glu Ile			
	260	265	270
Ser His Ser Ser Tyr Leu Gly Thr Asp Tyr Pro Thr Ala Met Thr Pro			
	275	280	285
Thr Ser Pro Arg Arg Tyr Ser Pro Val Ala Lys Asp Leu Leu Gly Glu			
	290	295	300
Glu Asp Ile Pro Arg Glu Pro Arg Arg Ile Val Ile His Arg Gly Ser			
305	310	315	320
Thr Gly Leu Gly Phe Asn Ile Val Gly Gly Glu Asp Gly Glu Gly Ile			
	325	330	335
Phe Ile Ser Phe Ile Leu Ala Gly Gly Pro Ala Asp Leu Ser Gly Glu			
	340	345	350
Leu Arg Lys Gly Asp Gln Ile Leu Ser Val Asn Gly Val Asp Leu Arg			
	355	360	365
Asn Ala Ser His Glu Gln Ala Ala Ile Ala Leu Lys Asn Ala Gly Gln			
	370	375	380
Thr Val Thr Ile Ile Ala Gln Tyr Lys Pro Glu Glu Tyr Ser Arg Phe			
385	390	395	400
Glu Ala Lys Ile His Asp Leu Arg Glu Gln Leu Met Asn Ser Ser Leu			
	405	410	415
Gly Ser Gly Thr Ala Ser Leu Arg Ser Asn Pro Lys Arg Gly Phe Tyr			
	420	425	430
Ile Arg Ala Leu Phe Asp Tyr Asp Lys Thr Lys Asp Cys Gly Phe Leu			
	435	440	445
Ser Gln Ala Leu Ser Phe Arg Phe Gly Asp Val Leu His Val Ile Asp			
450	455	460	

Ala Ser Asp Glu Glu Trp Trp Gln Ala Arg Arg Val His Ser Asp Ser			
465	470	475	480
Glu Thr Asp Asp Ile Gly Phe Ile Pro Ser Lys Arg Arg Val Glu Arg			
	485	490	495
Arg Glu Trp Ser Arg Leu Lys Ala Lys Asp Trp Gly Ser Ser Ser Gly			
	500	505	510
Ser Gln Gly Arg Glu Asp Ser Val Leu Ser Tyr Glu Thr Val Thr Gln			
	515	520	525
Met Glu Val His Tyr Ala Arg Pro Ile Ile Ile Leu Gly Pro Thr Lys			
	530	535	540
Asp Arg Ala Asn Asp Asp Leu Leu Ser Glu Phe Pro Asp Lys Phe Gly			
545	550	555	560
Ser Cys Val Pro His Thr Thr Arg Pro Lys Arg Glu Tyr Glu Ile Asp			
	565	570	575
Gly Arg Asp Tyr His Phe Val Ser Ser Arg Glu Lys Met Glu Lys Asp			
	580	585	590
Ile Gln Ala His Lys Phe Ile Glu Ala Gly Gln Tyr Asn Ser His Leu			
	595	600	605
Tyr Gly Thr Ser Val Gln Ser Val Arg Glu Val Ala Glu Gln Gly Lys			
	610	615	620
His Cys Ile Leu Asp Val Ser Ala Asn Ala Val Arg Arg Leu Gln Ala			
625	630	635	640
Ala His Leu His Pro Ile Ala Ile Phe Ile Arg Pro Arg Ser Leu Glu			
	645	650	655
Asn Val Leu Glu Ile Asn Lys Arg Ile Thr Glu Glu Gln Ala Arg Lys			
	660	665	670
Ala Phe Asp Arg Ala Thr Lys Leu Glu Gln Glu Phe Thr Glu Cys Phe			
	675	680	685
Ser Ala Ile Val Glu Gly Asp Ser Phe Glu Glu Ile Tyr His Lys Val			
	690	695	700
Lys Arg Val Ile Glu Asp Leu Ser Gly Pro Tyr Ile Trp Val Pro Ala			
705	710	715	720
Arg Glu Arg Leu			
<210>	117		
<211>	767		
<212>	PRT		
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)		
<220>			
<223>	PSD-95异型体2		

<400> 117

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

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

610	615	620
Phe Val Ser Ser Arg Glu Lys Met Glu Lys Asp Ile Gln Ala His Lys		
625	630	635
Phe Ile Glu Ala Gly Gln Tyr Asn Ser His Leu Tyr Gly Thr Ser Val		
645	650	655
Gln Ser Val Arg Glu Val Ala Glu Gln Gly Lys His Cys Ile Leu Asp		
660	665	670
Val Ser Ala Asn Ala Val Arg Arg Leu Gln Ala Ala His Leu His Pro		
675	680	685
Ile Ala Ile Phe Ile Arg Pro Arg Ser Leu Glu Asn Val Leu Glu Ile		
690	695	700
Asn Lys Arg Ile Thr Glu Glu Gln Ala Arg Lys Ala Phe Asp Arg Ala		
705	710	715
Thr Lys Leu Glu Gln Glu Phe Thr Glu Cys Phe Ser Ala Ile Val Glu		
725	730	735
Gly Asp Ser Phe Glu Glu Ile Tyr His Lys Val Lys Arg Val Ile Glu		
740	745	750
Asp Leu Ser Gly Pro Tyr Ile Trp Val Pro Ala Arg Glu Arg Leu		
755	760	765
<210> 118		
<211> 720		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial Sequence)		
<220>		
<223> PSD-95异型体3		
<400> 118		
Met Asp Cys Leu Cys Ile Val Thr Thr Lys Lys Tyr Arg Tyr Gln Asp		
1	5	10
Glu Asp Thr Pro Pro Leu Glu His Ser Pro Ala His Leu Pro Asn Gln		
20	25	30
Ala Asn Ser Pro Pro Val Ile Val Asn Thr Asp Thr Leu Glu Ala Pro		
35	40	45
Gly Tyr Val Asn Gly Thr Glu Gly Glu Met Glu Tyr Glu Glu Ile Thr		
50	55	60
Leu Glu Arg Gly Asn Ser Gly Leu Gly Phe Ser Ile Ala Gly Gly Thr		
65	70	75
Asp Asn Pro His Ile Gly Asp Asp Pro Ser Ile Phe Ile Thr Lys Ile		
85	90	95
Ile Pro Gly Gly Ala Ala Ala Gln Asp Gly Arg Leu Arg Val Asn Asp		

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

Thr	Ala	Ser	Leu	Arg	Ser	Asn	Pro	Lys	Arg	Gly	Phe	Tyr	Ile	Arg	Ala
420				425				430							
Leu	Phe	Asp	Tyr	Asp	Lys	Thr	Lys	Asp	Cys	Gly	Phe	Leu	Ser	Gln	Ala
435				440				445							
Leu	Ser	Phe	Arg	Phe	Gly	Asp	Val	Leu	His	Val	Ile	Asp	Ala	Ser	Asp
450				455				460							
Glu	Glu	Trp	Trp	Gln	Ala	Arg	Arg	Val	His	Ser	Asp	Ser	Glu	Thr	Asp
465				470				475				480			
Asp	Ile	Gly	Phe	Ile	Pro	Ser	Lys	Arg	Arg	Val	Glu	Arg	Arg	Glu	Trp
485				490				495							
Ser	Arg	Leu	Lys	Ala	Lys	Asp	Trp	Gly	Ser	Ser	Ser	Gly	Ser	Gln	Gly
500				505				510							
Arg	Glu	Asp	Ser	Val	Leu	Ser	Tyr	Glu	Thr	Val	Thr	Gln	Met	Glu	Val
515				520				525							
His	Tyr	Ala	Arg	Pro	Ile	Ile	Ile	Leu	Gly	Pro	Thr	Lys	Asp	Arg	Ala
530				535				540							
Asn	Asp	Asp	Leu	Leu	Ser	Glu	Phe	Pro	Asp	Lys	Phe	Gly	Ser	Cys	Val
545				550				555				560			
Pro	His	Thr	Thr	Arg	Pro	Lys	Arg	Glu	Tyr	Glu	Ile	Asp	Gly	Arg	Asp
565				570				575							
Tyr	His	Phe	Val	Ser	Ser	Arg	Glu	Lys	Met	Glu	Lys	Asp	Ile	Gln	Ala
580				585				590							
His	Lys	Phe	Ile	Glu	Ala	Gly	Gln	Tyr	Asn	Ser	His	Leu	Tyr	Gly	Thr
595				600				605							
Ser	Val	Gln	Ser	Val	Arg	Glu	Val	Ala	Glu	Gln	Gly	Lys	His	Cys	Ile
610				615				620							
Leu	Asp	Val	Ser	Ala	Asn	Ala	Val	Arg	Arg	Leu	Gln	Ala	Ala	His	Leu
625				630				635				640			
His	Pro	Ile	Ala	Ile	Phe	Ile	Arg	Pro	Arg	Ser	Leu	Glu	Asn	Val	Leu
645				650				655							
Glu	Ile	Asn	Lys	Arg	Ile	Thr	Glu	Glu	Gln	Ala	Arg	Lys	Ala	Phe	Asp
660				665				670							
Arg	Ala	Thr	Lys	Leu	Glu	Gln	Glu	Phe	Thr	Glu	Cys	Phe	Ser	Ala	Ile
675				680				685							
Val	Glu	Gly	Asp	Ser	Phe	Glu	Glu	Ile	Tyr	His	Lys	Val	Lys	Arg	Val
690				695				700							
Ile	Glu	Asp	Leu	Ser	Gly	Pro	Tyr	Ile	Trp	Val	Pro	Ala	Arg	Glu	Arg
705				710				715				720			

<210> 119

<211> 313

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> 突触素异型体1

<400> 119

```

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

```

	260		265		270
Gly Tyr Gln Pro Asp Tyr Gly Gln Pro Ala Gly Ser Gly Gly Ser Gly					
	275		280		285
Tyr Gly Pro Gln Gly Asp Tyr Gly Gln Gln Gly Tyr Gly Pro Gln Gly					
	290		295		300
Ala Pro Thr Ser Phe Ser Asn Gln Met					
305		310			
<210>	120				
<211>	193				
<212>	PRT				
<213>	人工序列 (Artificial Sequence)				
<220>					
<223>	突触素异型体2				
<400>	120				
Ala Leu Ala Thr Tyr Ile Phe Leu Gln Asn Lys Tyr Arg Glu Asn Asn					
1	5		10		15
Lys Gly Pro Met Leu Asp Phe Leu Ala Thr Ala Val Phe Ala Phe Met					
	20		25		30
Trp Leu Val Ser Ser Ser Ala Trp Ala Lys Gly Leu Ser Asp Val Lys					
	35		40		45
Met Ala Thr Asp Pro Glu Asn Ile Ile Lys Glu Met Pro Val Cys Arg					
	50		55		60
Gln Thr Gly Asn Thr Cys Lys Glu Leu Arg Asp Pro Val Thr Ser Gly					
65	70		75		80
Leu Asn Thr Ser Val Val Phe Gly Phe Leu Asn Leu Val Leu Trp Val					
	85		90		95
Gly Asn Leu Trp Phe Val Phe Lys Glu Thr Gly Trp Ala Ala Pro Phe					
	100		105		110
Leu Arg Ala Pro Pro Gly Ala Pro Glu Lys Gln Pro Ala Pro Gly Asp					
	115		120		125
Ala Tyr Gly Asp Ala Gly Tyr Gly Gln Gly Pro Gly Gly Tyr Gly Pro					
	130		135		140
Gln Asp Ser Tyr Gly Pro Gln Gly Gly Tyr Gln Pro Asp Tyr Gly Gln					
145	150		155		160
Pro Ala Gly Ser Gly Gly Ser Gly Tyr Gly Pro Gln Gly Asp Tyr Gly					
	165		170		175
Gln Gln Gly Tyr Gly Pro Gln Gly Ala Pro Thr Ser Phe Ser Asn Gln					
	180		185		190
Met					

<210> 121
 <211> 277
 <212> PRT
 <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 <220>
 <223> 半胱天冬酶-3
 <400> 121
 Met Glu Asn Thr Glu Asn Ser Val Asp Ser Lys Ser Ile Lys Asn Leu
 1 5 10 15
 Glu Pro Lys Ile Ile His Gly Ser Glu Ser Met Asp Ser Gly Ile Ser
 20 25 30
 Leu Asp Asn Ser Tyr Lys Met Asp Tyr Pro Glu Met Gly Leu Cys Ile
 35 40 45
 Ile Ile Asn Asn Lys Asn Phe His Lys Ser Thr Gly Met Thr Ser Arg
 50 55 60
 Ser Gly Thr Asp Val Asp Ala Ala Asn Leu Arg Glu Thr Phe Arg Asn
 65 70 75 80
 Leu Lys Tyr Glu Val Arg Asn Lys Asn Asp Leu Thr Arg Glu Glu Ile
 85 90 95
 Val Glu Leu Met Arg Asp Val Ser Lys Glu Asp His Ser Lys Arg Ser
 100 105 110
 Ser Phe Val Cys Val Leu Leu Ser His Gly Glu Glu Gly Ile Ile Phe
 115 120 125
 Gly Thr Asn Gly Pro Val Asp Leu Lys Lys Ile Thr Asn Phe Phe Arg
 130 135 140
 Gly Asp Arg Cys Arg Ser Leu Thr Gly Lys Pro Lys Leu Phe Ile Ile
 145 150 155 160
 Gln Ala Cys Arg Gly Thr Glu Leu Asp Cys Gly Ile Glu Thr Asp Ser
 165 170 175
 Gly Val Asp Asp Asp Met Ala Cys His Lys Ile Pro Val Glu Ala Asp
 180 185 190
 Phe Leu Tyr Ala Tyr Ser Thr Ala Pro Gly Tyr Tyr Ser Trp Arg Asn
 195 200 205
 Ser Lys Asp Gly Ser Trp Phe Ile Gln Ser Leu Cys Ala Met Leu Lys
 210 215 220
 Gln Tyr Ala Asp Lys Leu Glu Phe Met His Ile Leu Thr Arg Val Asn
 225 230 235 240
 Arg Lys Val Ala Thr Glu Phe Glu Ser Phe Ser Phe Asp Ala Thr Phe
 245 250 255

His Ala Lys Lys Gln Ile Pro Cys Ile Val Ser Met Leu Thr Lys Glu
 260 265 270

Leu Tyr Phe Tyr His
 275

<210> 122

<211> 8873

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<220>

<223> pLenti-III-mir-GFP载体

<400> 122

ttttggattg aagccaatat gataatgagg ggggtggagtt tgtgacgtgg cgcgggggcgt	60
gggaacggggg cgggtgacgt agtagtgttg cggaagtgtg atgttgcaag tgtggcgga	120
cacatgtaag cgacggatgt ggcaaaagtg acgttttttg tgtgcgccgg tgtacacagg	180
aagtgacaat tttcgcgcgg ttttaggcgg atgttgtagt aaatttgggc gtaaccgagt	240
aagatttggc cattttcgcg ggaaaactga ataagaggaa gtgaaatctg aataattttg	300
tgttactcat agcgcgtaat acggcagacc tcagcgctag attattgaag catttatcag	360
ggttattgtc tcatgagcgg atacatattt gaatgtattt agaaaaataa acaaataggg	420
gttccgcgca catttccccg aaaagtgcc cctgacgtta actataacgg tcctaaggt	480
gcgaaaatgt agtcttatgc aatactcttg tagtcttgca acatggtaac gatgagttag	540
caacatgcct tacaaggaga gaaaaagcac cgtgcatgcc gattggtgga agtaaggtgg	600
tacgatcgtg ccttattagg aaggcaacag acgggtctga catggattgg acgaaccact	660
gaattgccgc attgcagaga tattgtattt aagtgcctag ctcgatacat aaacgggtct	720
ctctgggttag accagatctg agcctgggag ctctctggct aactaggga cccactgctt	780
aagcctcaat aaagcttgcc ttgagtgcct caagtagtgt gtgcccgtct gttgtgtgac	840
tctggtaact agagatccct cagacccttt tagtcagtgt ggaaaatctc tagcagtggc	900
gcccgaacag ggacttgaaa gcgaaaggga aaccagagga gctctctcga cgcaggactc	960
ggcttgctga agcgcgcacg gcaagaggcg aggggcggcg actggtgagt acgcaaaaa	1020
ttttgactag cggaggctag aaggagagag atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg	1080
ggagaattag atcgcgatgg gaaaaaattc ggtaaaggcc aggggggaaag aaaaaatata	1140
aattaaaca tatagtattg gcaagcaggg agctagaacg attcgcagtt aatcctggcc	1200
tgttagaaac atcagaaggc ttagacaaa tactgggaca gctacaacca tcccttcaga	1260
caggatcaga agaacttaga tcattatata atacagtagc aacctctat tgtgtgcatc	1320
aaaggataga gataaaagac accaaggaag ctttagacaa gatagaggaa gagcaaaaca	1380
aaagtaagac caccgcacag caagcccgt gatcttcaga cctggaggag gagatatgag	1440
ggacattgga gaagtgaatt atataaatat aaagtagtaa aaattgaacc attaggagta	1500
gcacccacca aggcaaagag aagagtgttg cagagagaaa aaagagcagt gggaatagga	1560
gctttgttcc ttgggttctt gggagcagca ggaagcacta tgggcgcagc gtcaatgacg	1620
ctgacggtac aggccagaca attattgtct ggtatagtgc agcagcagaa caatttgctg	1680

agggctattg	aggcgcaaca	gcatctgttg	caactcacag	tctggggcat	caagcagctc	1740
caggcaagaa	tcctggctgt	ggaaagatac	ctaaaggatc	aacagctcct	ggggatttgg	1800
ggttgctctg	gaaaactcat	ttgcaccact	gctgtgcctt	ggaatgctag	ttggagtaat	1860
aaatctcttg	aacagatttg	gaatcacacg	acctggatgg	agtgggacag	agaaattaac	1920
aattacacaa	gcttaataca	ctccttaatt	gaagaatcgc	aaaaccagca	agaaaagaat	1980
gaacaagaat	tattggaatt	agataaatgg	gcaagtttgt	ggaattgggt	taacataaca	2040
aattggctgt	ggtatataaa	attattcata	atgatagtag	gaggcttggg	aggtttaaga	2100
atagtttttg	ctgtactttc	tatagtgaat	agagttaggc	agggatattc	accattatcg	2160
tttcagaccc	acctcccaac	cccgagggga	cccgcaggc	ccgaaggaa	agaagaagaa	2220
ggtggagaga	gagacagaga	cagatccatt	cgattagtga	acggatctcg	acggtatcga	2280
aagcttggga	ttcgaattta	aaagaaaagg	ggggattggg	gggtacagt	caggggaaag	2340
aatagtagac	ataatagcaa	cagacataca	aactaaagaa	ctacaaaaac	aaattacaaa	2400
aattcaaaa	tttcgggttt	ttcgaacct	gggttcgcgc	ttacataact	tacggttaat	2460
ggcccgccctg	gctgaccgcc	caacgacccc	cgcccattga	cgtcaataat	gacgtatgtt	2520
cccatagtaa	cgccaatagg	gactttccat	tgacgtcaat	gggtggagta	tttacggtaa	2580
actgcccact	tggcagtaca	tcaagtgtat	catatgccaa	gtacgcccc	tattgacgtc	2640
aatgacggta	aatggccgc	ctggcattat	gccagtaca	tgaccttatg	ggactttcct	2700
acttggcagt	acatctacgt	ttagtcatcg	ctattacat	ggtgatgcgg	ttttggcagt	2760
acatcaatgg	gcgtggatag	cggtttgact	cacggggatt	tccaagtctc	cacccattg	2820
acgtcaatgg	gagtttggtt	tggcaccaaa	atcaacggga	ctttccaaaa	tgctgtaaca	2880
actccgcccc	attgacgcaa	atgggcggta	ggcgtgtacg	gtgggaggtc	tatataagca	2940
gagctcgttt	agtgaaccgt	cagatcgctt	ggagacgcca	tccacgtgt	tttgacctcc	3000
atagaagaac	cgagtttaaa	ctccctatca	gtgatagaga	tctccctatc	agtgatagag	3060
agctagaatc	tagaggfacc	gccacatgg	tgagcaaggg	cgaggagctg	ttcacgggg	3120
tggtgcccct	cctggctcag	ctggacggcg	acgtaaacgg	ccacaagttc	agcgtgtccg	3180
gcgagggcga	gggcgatgcc	acctacggca	agctgaccct	gaagttcatc	tgaccaccgc	3240
gcaagctgcc	cgtgccctgg	cccaccctcg	tgaccaccct	gacctacggc	gtgcagtgtt	3300
tcagccgcta	ccccgaccac	atgaagcagc	acgacttctt	caagtccgcc	atgcccgaag	3360
gctacgtcca	ggagcgcacc	atctttctca	aggacgacgg	caactacaag	accgcgcgcg	3420
aggagaagt	cgagggcgac	accctgggtg	accgcatcga	gctgaagggc	atcgacttca	3480
aggaggacgg	caacatcctg	gggcacaagc	tggagtacaa	ctacaacagc	cacaacgtct	3540
atatcatggc	cgacaagcag	aagaacggca	tcaaggtgaa	cttcaagatc	cgccacaaca	3600
tcgaggacgg	cagcgtgcag	ctcgccgacc	actaccagca	gaacaccccc	atcggcgcag	3660
gccccgtgct	gctgcccgc	aaccactacc	tgagcaccca	gtccgccctg	agcaaagacc	3720
ccaacgagaa	gcgcgatcac	atggtcctgc	tggagtctgt	gaccgccgcc	gggatcactc	3780
tcggcatgga	cgagctgtac	aagtgaggta	ccgatatcga	attcatagct	agccctgcag	3840
gtctagactc	gaggtcatac	acggctctcc	tctctgcggc	cgcagtcgag	taccatacag	3900
acgtcccaga	ctacgcttga	gtttaaacac	gcgtgggtgtg	gaaagtcccc	aggctcccca	3960
gcaggcagaa	gtatgcaaag	catgcatctc	aattagtcag	caaccaggtg	tggaaagtcc	4020

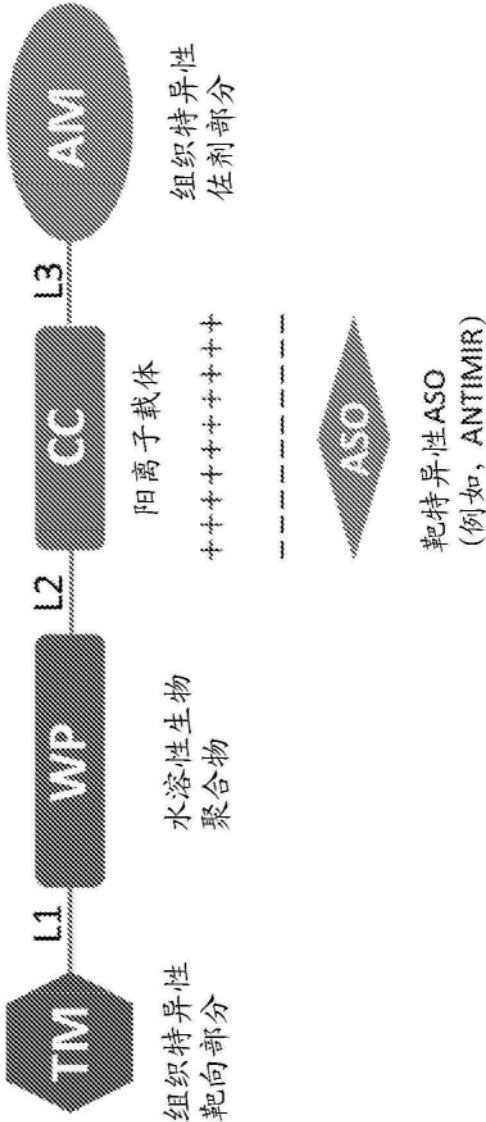
ccaggctccc	cagcaggcag	aagtatgcaa	agcatgcatc	tcaattagtc	agcaaccata	4080
gtcccccccc	taactccgcc	catccccccc	ctaactccgc	ccagttccgc	ccattctccg	4140
ccccatggct	gactaatfff	ttttatttat	gcagaggccg	aggccgcctc	ggcctctgag	4200
ctattccaga	agtagtgagg	aggctttttt	ggaggccatg	accgagtaca	agcccacggt	4260
gcgcctcgcc	acccgcgacg	acgtccctcg	ggccgtacgc	accctcgccg	ccgcgttcgc	4320
cgactacccc	gccacgcgcc	acaccgtgga	cccggaccgc	cacatcgagc	gggtcaccga	4380
gctgcaagaa	ctcttcctca	cgcgcgctcg	gctcgacatc	ggcaagggtg	gggtcgcgga	4440
cgacggcgcc	gcggtggcgg	tctggaccac	gccggagagc	gtcgaagcgg	gggcggtgtt	4500
cgccgagatc	ggcccgcgca	tggccgagtt	gagcggttcc	cggctggccg	cgcagcaaca	4560
gatggaaggg	ctcctggcgc	cgcacccggc	caaggagccc	gcgtggttcc	tggccaccgt	4620
cggcgtctcg	cccgaccacc	agggcaaggg	tctgggcagc	gccgtcgtgc	tccccggagt	4680
ggaggcggcc	gagcgcgccg	gggtgccccg	cttcttgagg	acctccgcgc	cccgaacct	4740
ccccttctac	gagcggctcg	gcttcaccgt	caccgccgac	gtcgaggtgc	ccgaaggacc	4800
gcgcacctgg	tgcattgacc	gcaagccccg	tgctgaacg	cgttccggaa	atcaacctct	4860
ggattacaaa	atttgtgaaa	gattgactgg	tattcttaac	tatgttgctc	cttttacgct	4920
atgtggatac	gctgctttaa	tgcccttgta	tcatgctatt	gcttcccgtg	tggctttcat	4980
tttctcctcc	ttgtataaat	cctggttgct	gtctctttat	gaggagtgtg	ggcccgttgt	5040
caggcaacgt	ggcgtgggtg	gcactgtgtt	tgctgacgca	acccccactg	gttggggcat	5100
tgccaccacc	tgtcagctcc	tttccgggac	tttcgcttcc	cccctcccta	ttgccacggc	5160
ggaactcatc	gccgcctgcc	ttgcccgtcg	ctggacaggg	gctcggctgt	tgggcactga	5220
caattccgtg	gtgtgtgctg	ggaagctgac	gtcctttcca	tggtgtctcg	cctgtgttgc	5280
cacctggatt	ctgcgcggga	cgtccttctg	ctacgtccct	tcggccctca	atccagcgga	5340
ccttccttcc	cgcggcctgc	tgccggctct	gcggcctctt	ccgcgtctcg	ccttcgcctt	5400
cagacgagtc	ggatctccct	ttgggcccgc	tccccgcctg	tccgatgga	agggttaatt	5460
cactcccaac	gaatacaaga	tctgcttttt	gcttgactgt	ggtctctctg	gttagaccag	5520
atctgagcct	gggagctctc	tggctaacta	gggaaccacc	tgcttaagcc	tcaataaagc	5580
ttgccttgag	tgcttcaagt	agtgtgtgcc	cgtctgttgt	gtgactctgg	taactagaga	5640
tccctcagac	ccttttagtc	agtgtggaaa	attctagcag	tagtagttca	tgtcatctta	5700
ttattcagta	tttataactt	gcaaagaaat	gaatatcaga	gagtgaagg	aacttgttta	5760
ttgcagctta	taatggttac	aaataaagca	atagcatcac	aaatttcaca	aataaagcat	5820
ttttttcact	gcattctagt	tgtggtttgt	ccaaactcat	caatgtatct	tatcatgtct	5880
ggcatctatg	tcgggtgcgg	agaaagaggt	aatgaaatgg	cattatgggt	attatgggtc	5940
tgcattaatg	aatcggccaa	cgatcccggg	gtgaaatacc	gcacagatgc	gtaaggagaa	6000
aataccgcat	caggcgtctc	tccgcttcct	cgtcactga	ctcgtctgcg	tcggctcgtc	6060
ggctgcggcg	agcggatatc	gctcactcaa	aggcggtaat	acggttatcc	acagaatcag	6120
gggataacgc	aggaaagaac	atgtgagcaa	aaggccagca	aaaggccagg	aaccgtaaaa	6180
aggccgcgtt	gctggcggtt	ttccataggc	tccgcccccc	tgacgagcat	cacaaaaatc	6240
gacgtcaag	tcagaggtgg	cgaaccgccg	caggactata	aagataccag	gcgtttcccc	6300
ctggaagctc	cctcgtgcgc	tctcctgttc	cgacctgccc	gcttaccgga	tacctgtccg	6360

cctttctccc	ttcgggaagc	gtggcgcttt	ctcatagctc	acgctgtagg	tatctcagtt	6420
cgggtgtaggt	cgttcgctcc	aagctgggct	gtgtgcacga	acccccggt	cagccccgacc	6480
gctgcgcctt	atccggtaac	tatcgtcttg	agtccaaccc	ggtaaagacac	gacttatcgc	6540
cactggcagc	agccactggg	aacaggatta	gcagagcgag	gtatgtaggc	ggtgctacag	6600
agttcttgaa	gtggtggcct	aactacggct	acactagaag	gacagtatct	ggtatctgcg	6660
ctctgctgaa	gccagttacc	ttcggaaaaa	gagttggtag	ctcttgatcc	ggcaaacaaa	6720
ccaccgctgg	tagcgggtgg	ttttttgttt	gcaagcagca	gattacgcgc	agaaaaaaag	6780
gatctcaaga	agatcccttg	atcttttcta	cggggctctga	cgctcagtg	aacgaaaact	6840
cacgttaagg	gatttttggt	atgagattat	caaaaaggat	cttcacctag	atccttttaa	6900
attaaaaatg	aagttttaaa	tcaatctaaa	gtatatatga	gtaaacttgg	tctgacagtt	6960
accaatgctt	aatcagtgag	gcacctatct	cagcgatctg	tctatttctg	tcatccatag	7020
ttgcctgact	ccccgtcgtg	tagataacta	cgatacggga	gggcttacca	tctggcccca	7080
gtgctgcaat	gataccgcga	gacccacgct	caccggctcc	agattttatca	gcaataaacc	7140
agccagccgg	aaggggccgag	cgcagaagtg	gtcctgcaac	tttatccgcc	tccatccagt	7200
ctattaattg	ttgccgggaa	gctagagtaa	gtagttcgcc	agttaatagt	ttgcgcaacg	7260
ttgttgaaaa	aggatcttca	cctagatcct	tttcacgtag	aaagccagtc	cgcagaaacg	7320
gtgctgaccc	cggatgaatg	tcagctactg	ggctatctgg	acaagggaaa	acgcaagcgc	7380
aaagagaaaag	caggtagctt	gcagtgggct	tacatggcga	tagctagact	gggcggtttt	7440
atggacagca	agcgaaccgg	aattgccagc	tggggcgccc	tctggttaagg	ttgggaagcc	7500
ctgcaaagta	aactggatgg	ctttctcgcc	gccaaggatc	tgatggcgca	ggggatcaag	7560
ctctgatcaa	gagacaggat	gaggatcggt	tcgcatgatt	gaacaagatg	gattgcacgc	7620
aggttctccg	gccgcttggg	tggagaggct	attcggctat	gactgggcac	aacagacaat	7680
cggctgctct	gatgccgccg	tgttccggct	gtcagcgag	gggcgcccgg	ttctttttgt	7740
caagaccgac	ctgtccgggt	ccctgaatga	actgcaagac	gaggcagcgc	ggctatcgtg	7800
gctggccacg	acgggcgttc	cttgcgagc	tgtgtcgcac	gttgctactg	aagcgggaag	7860
ggactggctg	ctattgggag	aagtgccggg	gcaggatctc	ctgtcatctc	accttgctcc	7920
tgccgagaaa	gtatccatca	tggctgatgc	aatgcggcgg	ctgcatacgc	ttgatccggc	7980
tacctgcccc	ttcgaccacc	aagcgaaaca	tcgcatcgag	cgagcacgta	ctcgatgga	8040
agccgggtctt	gtcgatcagg	atgatctgga	cgaagagcat	caggggctcg	cgccagccga	8100
actgttcgcc	aggctcaagg	cgagcatgcc	cgacggcgag	gatctcgtcg	tgacctatgg	8160
cgatgcctgc	ttgccgaata	tcatggtgga	aaatggccgc	ttttctggat	tcatcgaactg	8220
tggccggctg	ggtgtggcgg	accgctatca	ggacatagcg	ttggctaccc	gtgatattgc	8280
tgaagagctt	ggcggcgaat	gggctgaccg	cttctcgtg	ctttacggta	tcgccgctcc	8340
cgattcgcag	cgcctgcctt	tctatcgctt	tcttgacgag	ttcttctgaa	ttttgttaaa	8400
atttttgtta	aatcagctca	ttttttaacc	aataggccga	aatcggcaac	atcccttata	8460
aatcaaaaga	atagaccgcg	atagggttga	gtgttgttcc	agtttggaac	aagagtccac	8520
tattaaagaa	cgtggactcc	aacgtcaaag	ggcgaaaaac	cgtctatcag	ggcgatggcc	8580
cactacgtga	accatcaccc	aaatcaagtt	ttttgcggtc	gaggtgccgt	aaagctctaa	8640
atcggaaacc	taaaggagc	ccccgattta	gagcttgacg	gggaaagccg	gcgaacgtgg	8700

cgagaaagga	agggaagaaa	gcgaaaggag	cgggcgctag	ggcgctggca	agtgtagcgg	8760
tcacgctgcg	cgtaaccacc	acacccgcgc	gttaatgcg	cgcctacagg	gcgcgtccat	8820
tcgccattca	ggatcgaatt	aattcttaat	taacatcatc	aataatatac	ctt	8873

阳离子载体单元

L1, L2, L3 ~ 任选的接头部分 (每个部分可包含一个或多个接头, 所述一个或多个接头可相同或不同)



阴离子有效载荷

图1

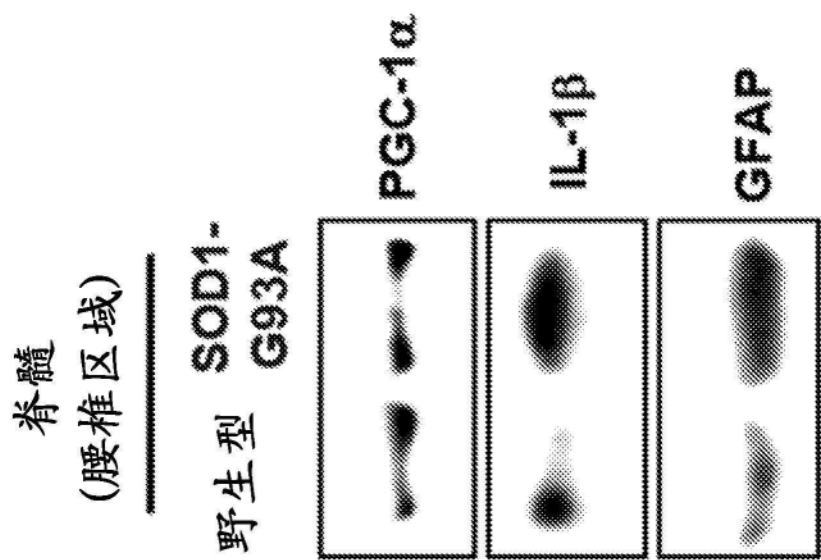


图2A

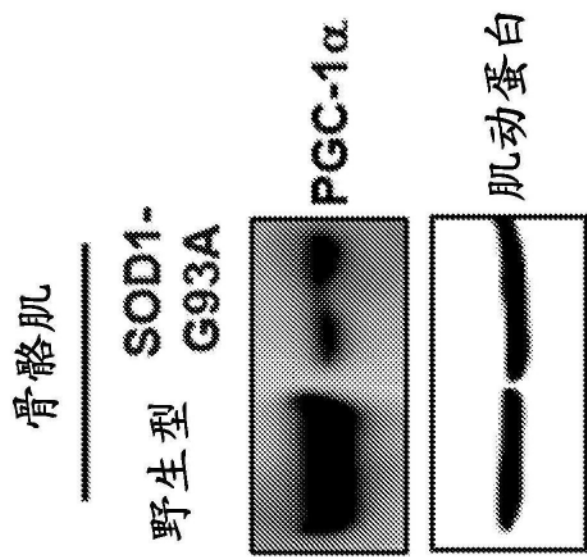


图2B

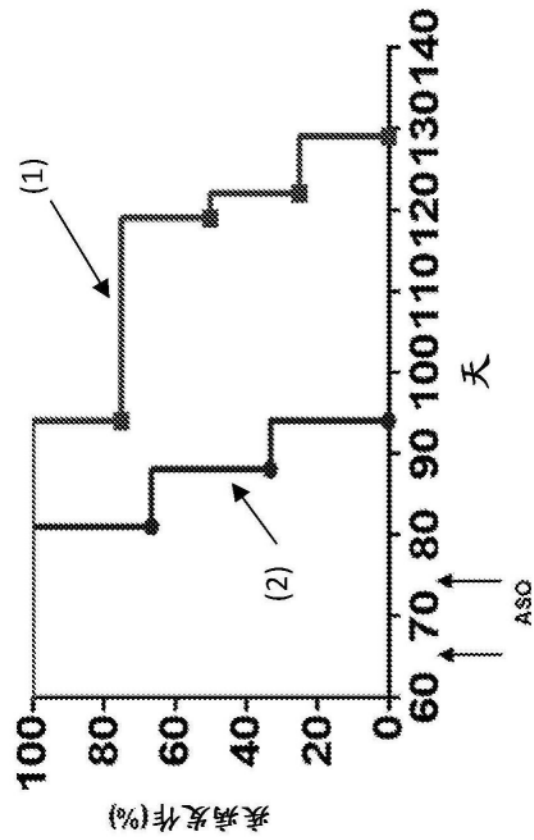


图3A

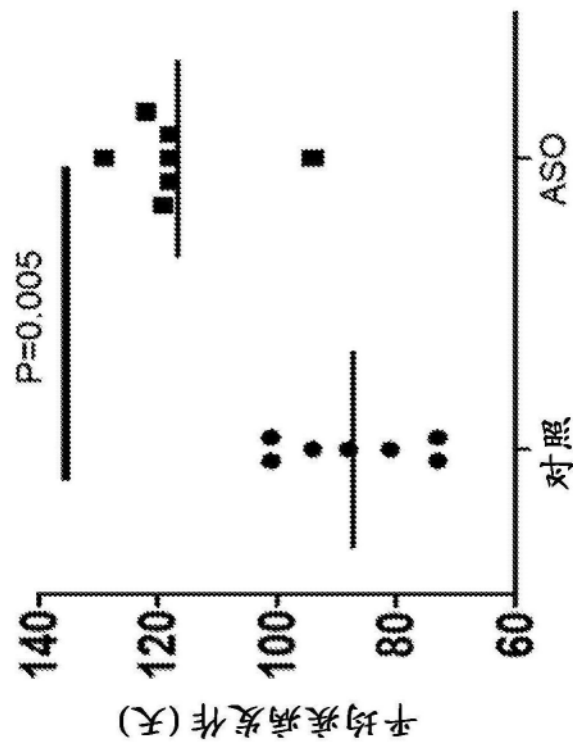


图3B

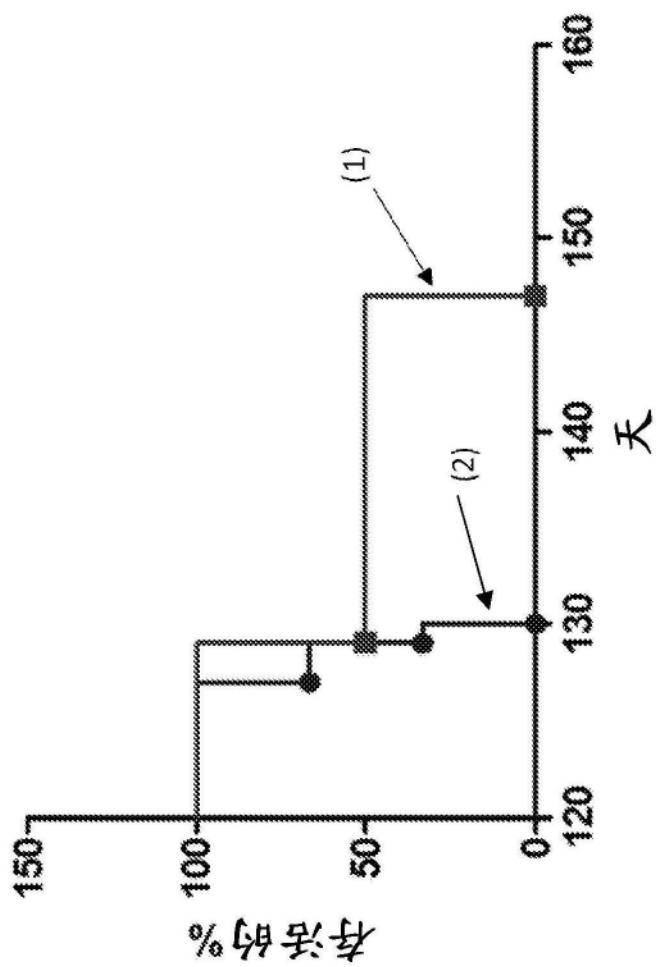


图3C

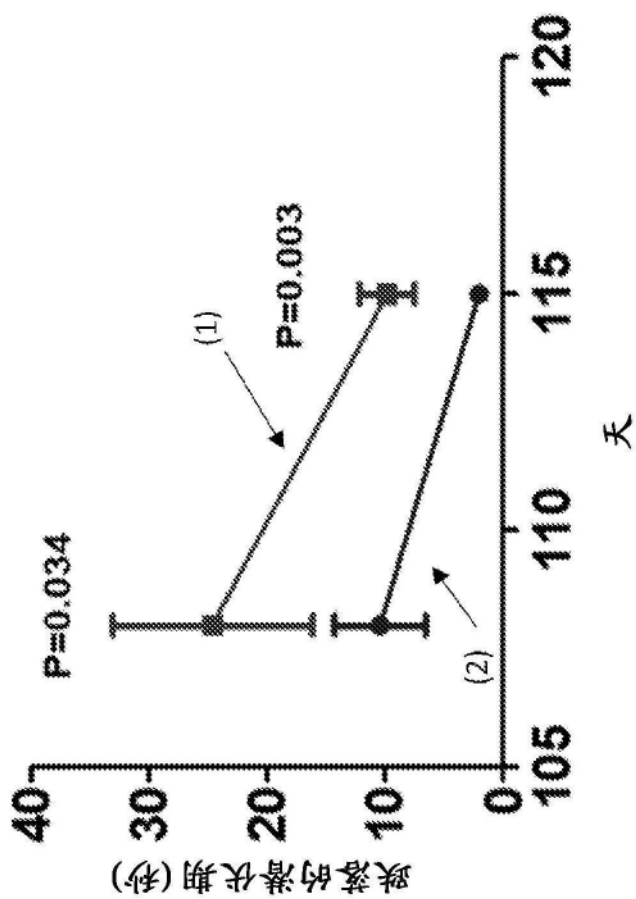


图4

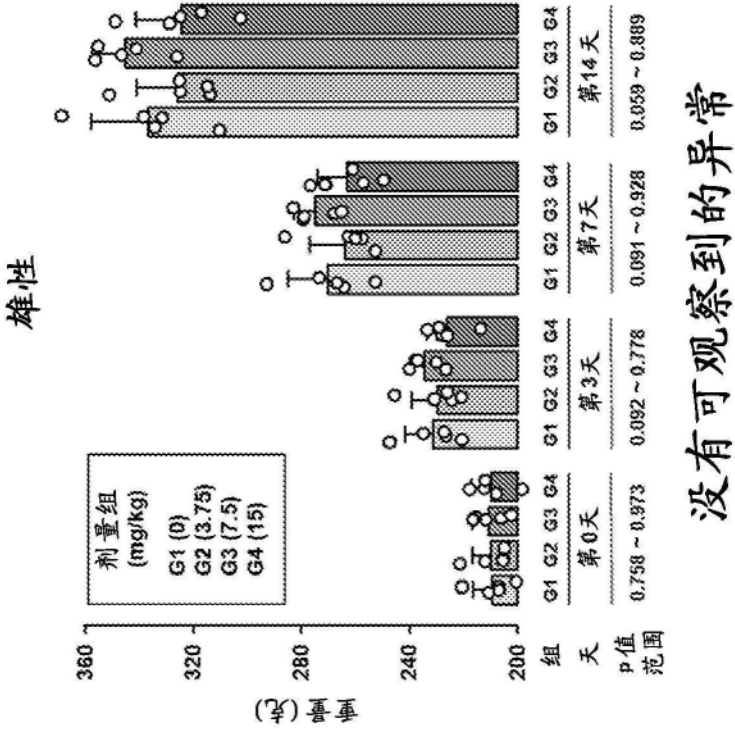


图5A

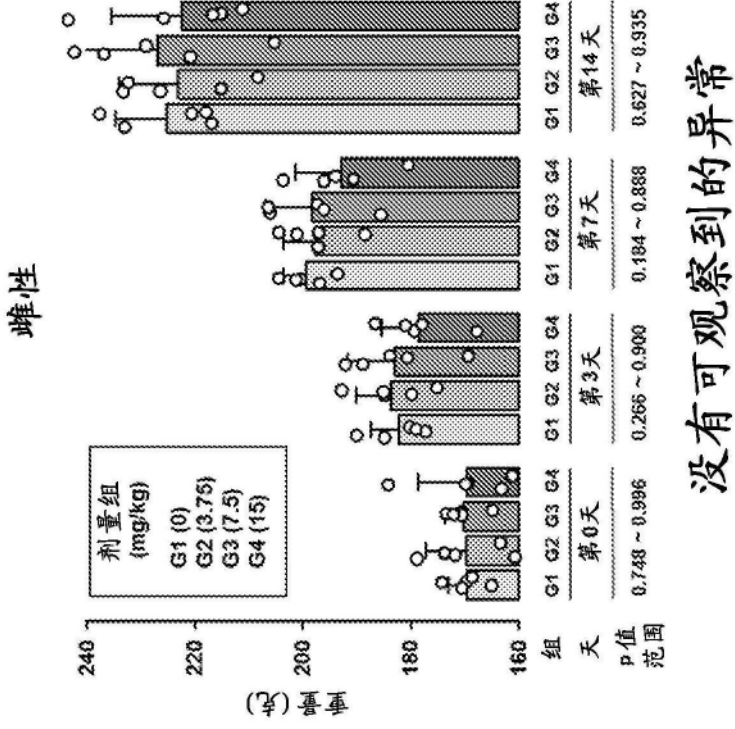


图5B

性别	组/剂量 (mg/kg)	动物的 数量	给药后天数														死亡率	
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
雄性	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	G2 3.75	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	G3 7.5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	G4 15	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%

图6A

性别	组/剂量 (mg/kg)	动物的 数量	给药后天数														死亡率	
			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		14
雌性	G1 0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	G2 3.75	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	G3 7.5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%
	G4 15	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0%

图6B

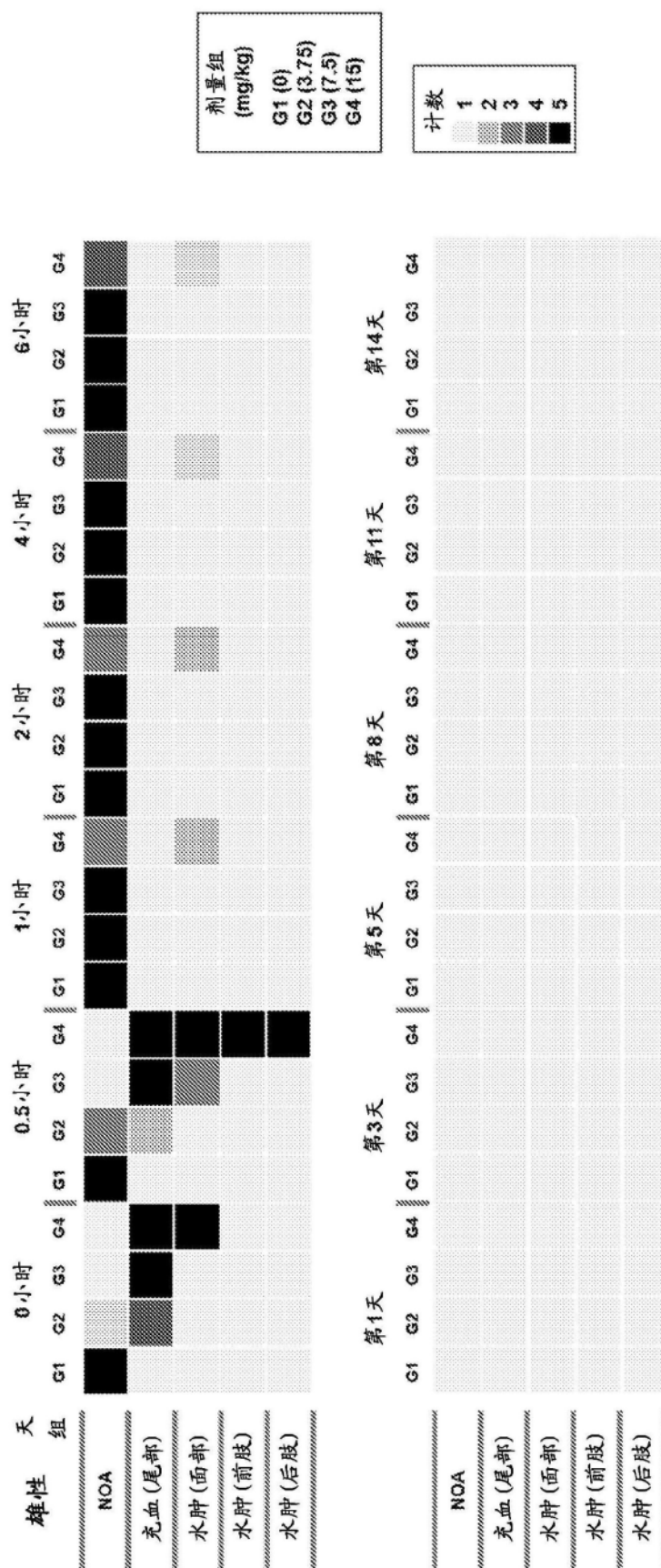


图7A

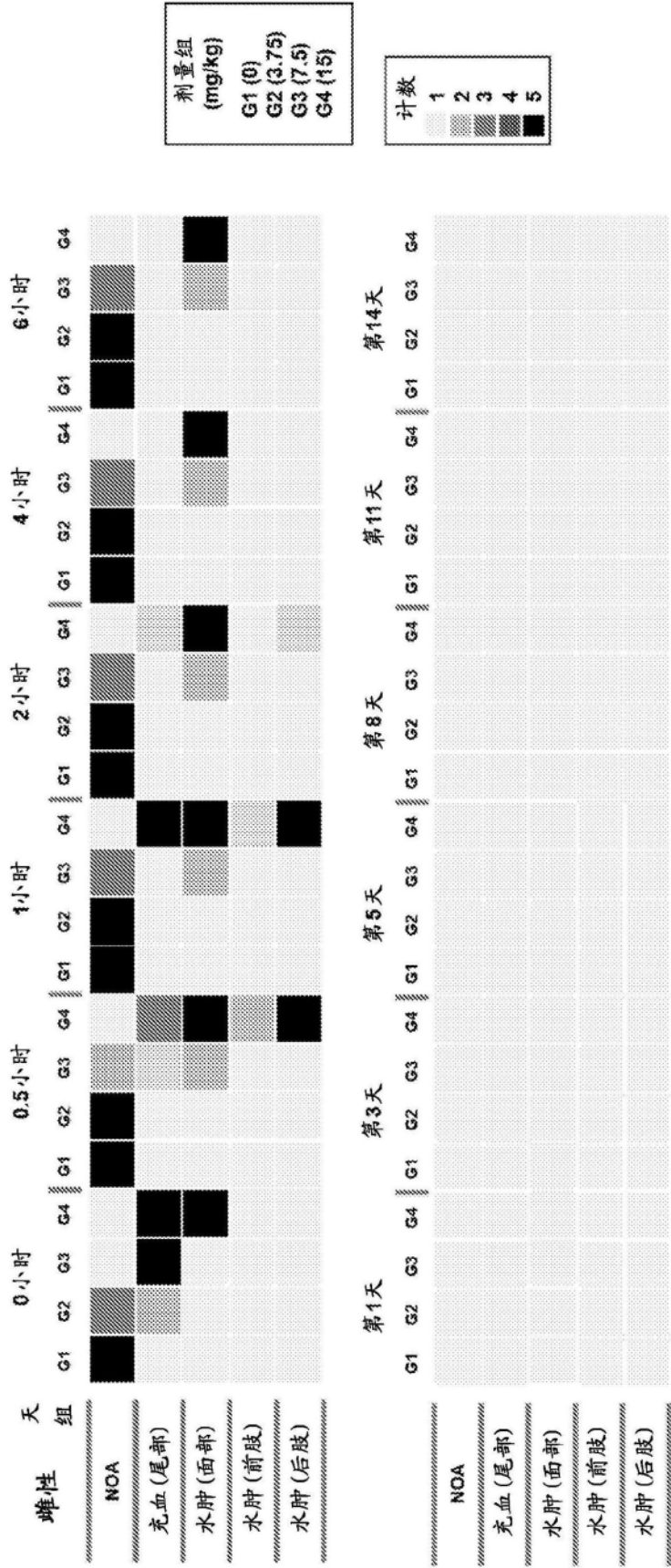


图7B

雄性	组			
	1	2	3	4
动物的数量	5	5	5	5
检查的数量	5	5	5	5
没有注意到的发现	5	5	5	5

图8A

雌性	组			
	1	2	3	4
动物的数量	5	5	5	5
检查的数量	5	5	5	5
没有注意到的发现	5	5	5	5

图8B

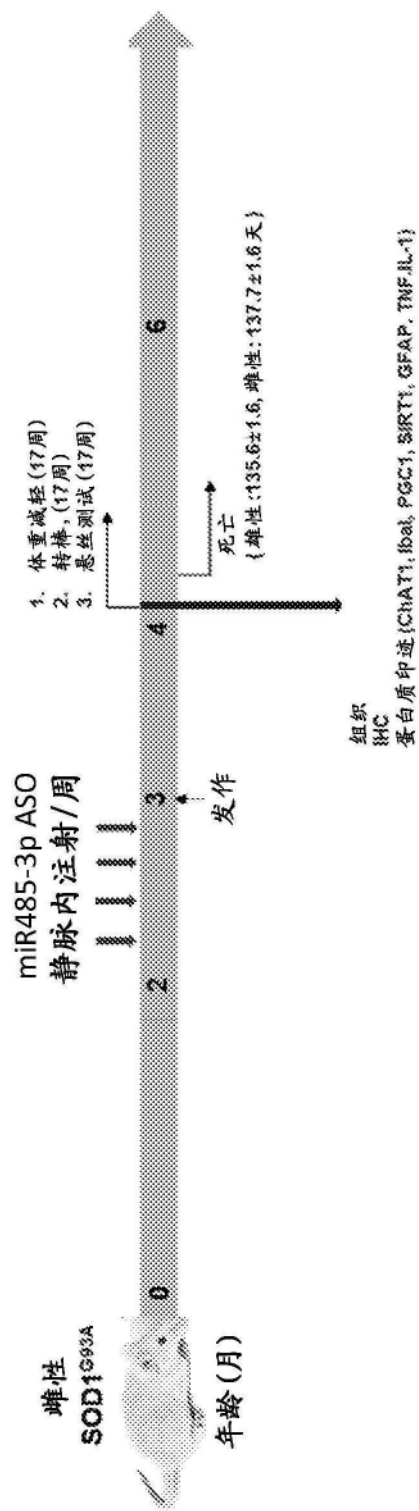


图9A

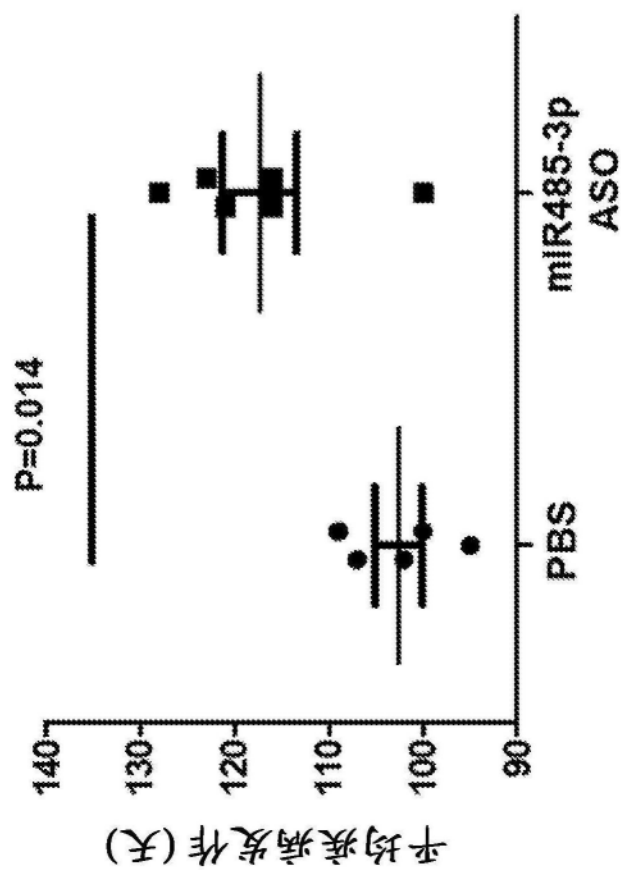


图9B

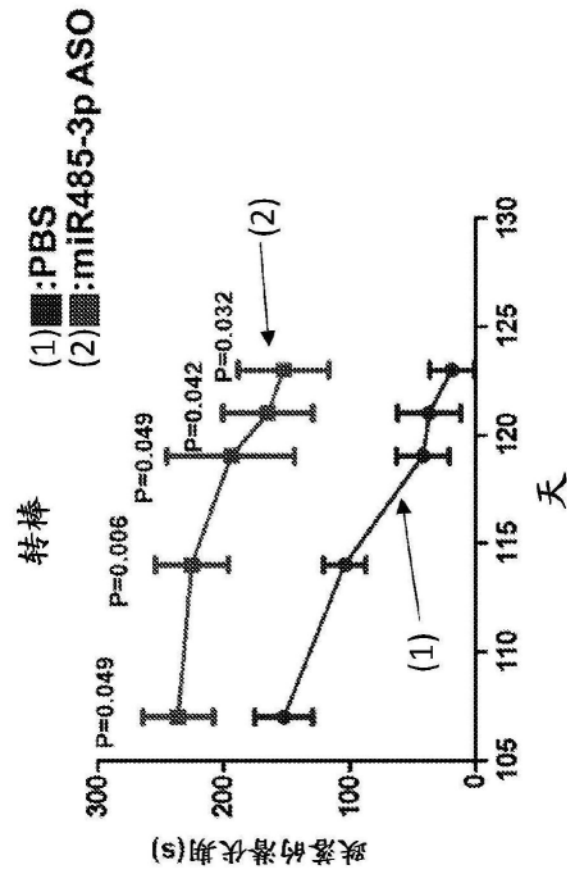


图9C

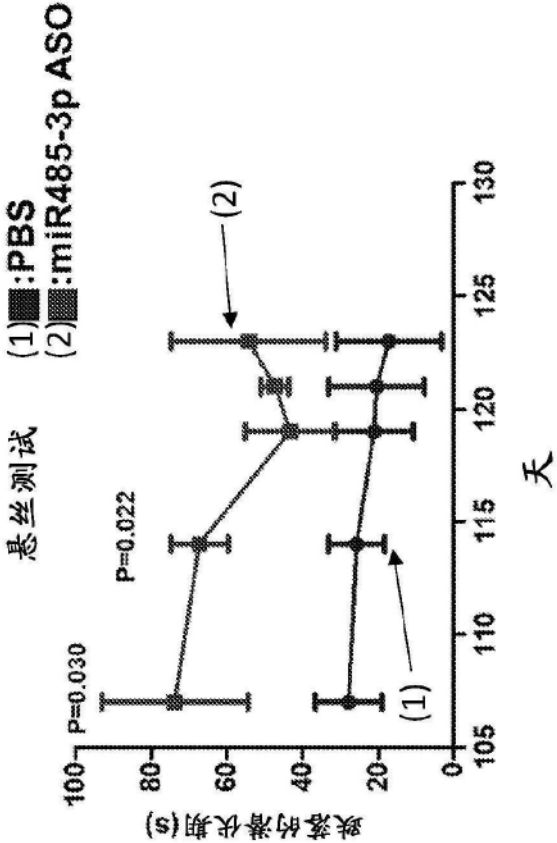


图9D

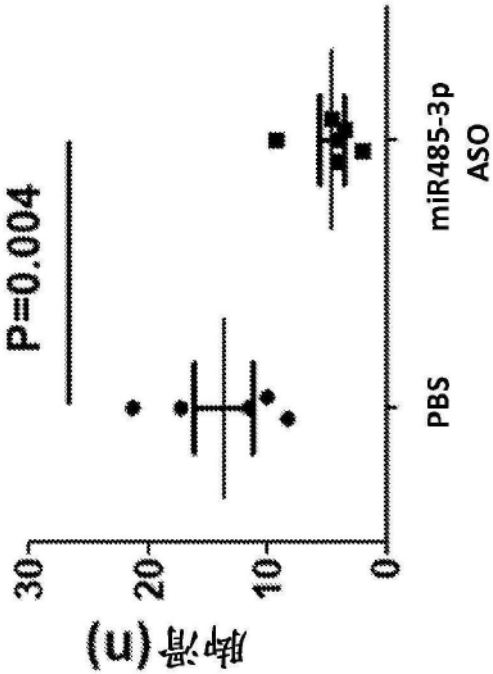


图9E

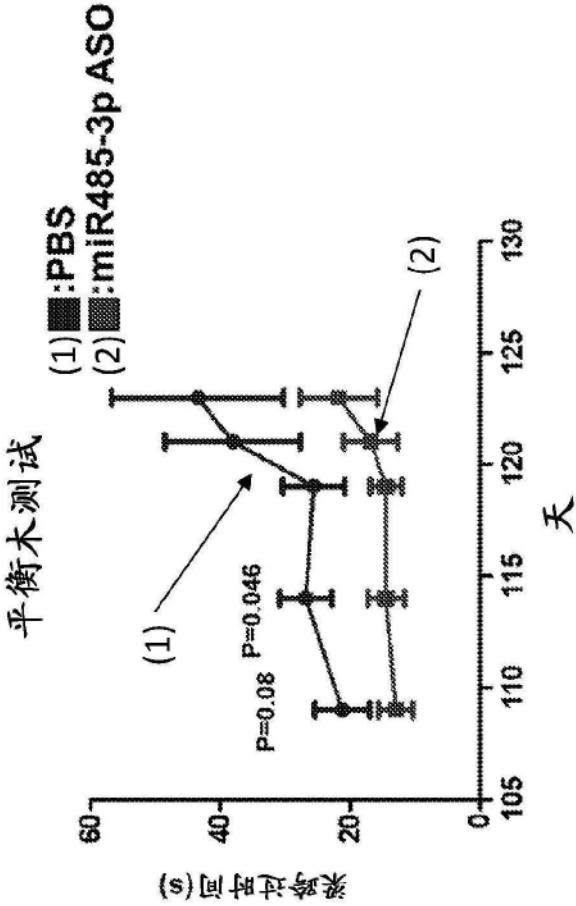


图9F

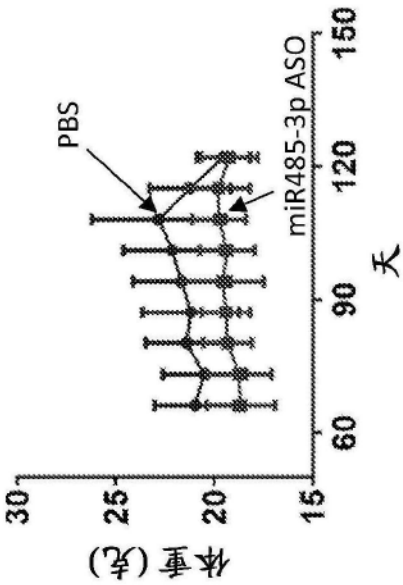


图9G

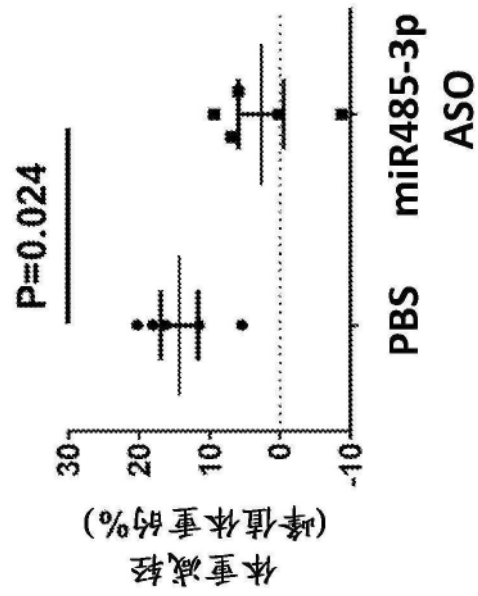


图9H

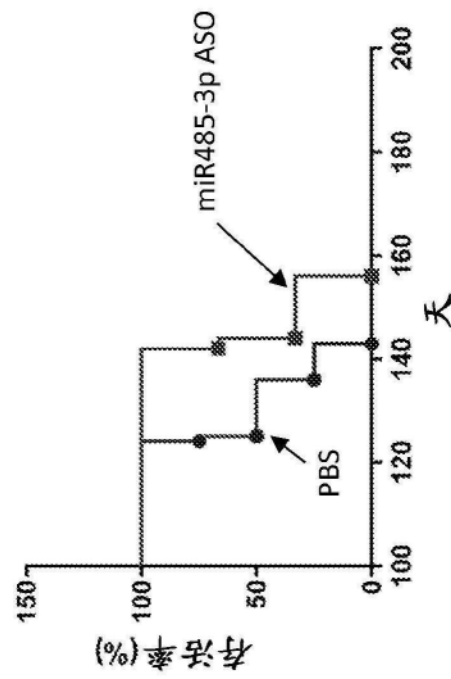


图9I

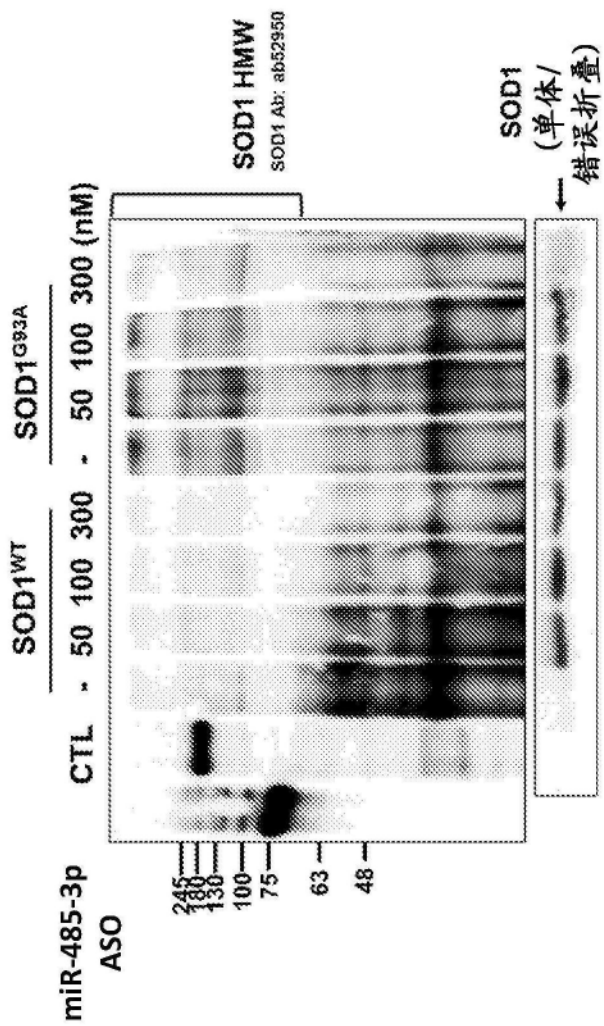


图10A

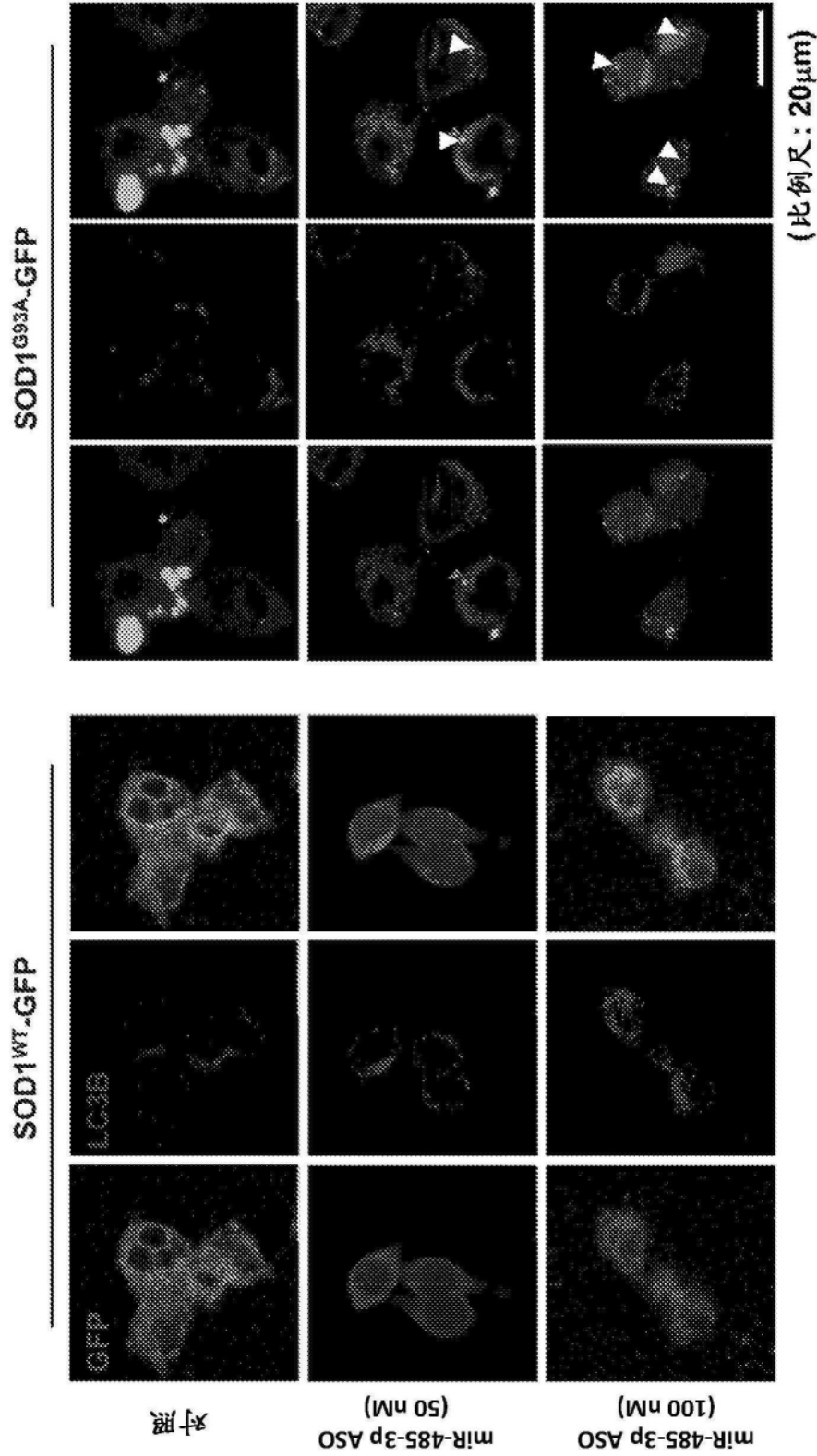


图10B

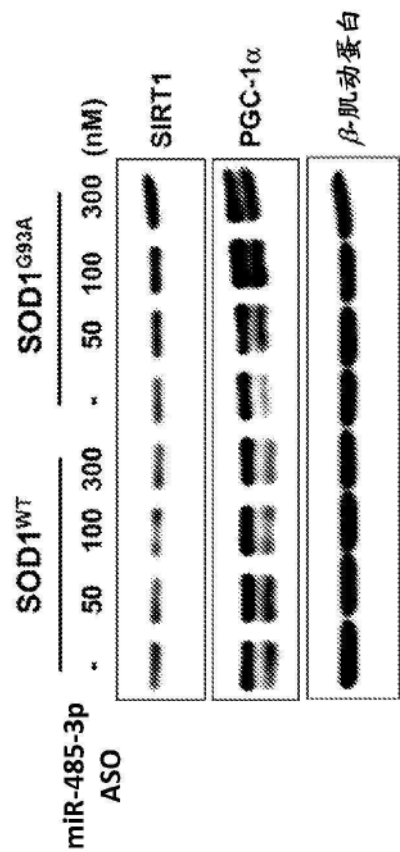


图10C

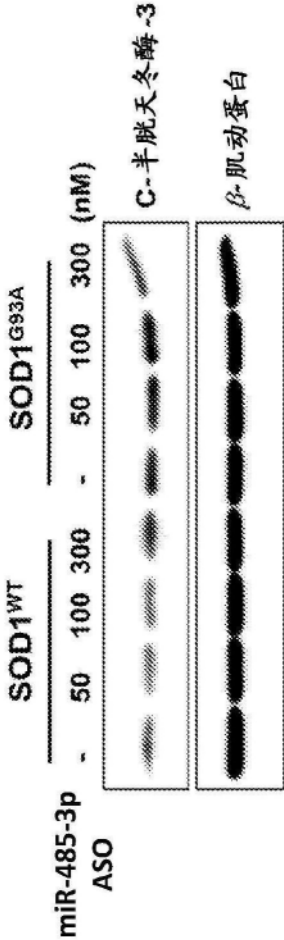


图10D