(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112203646 A
(43)申请公布日 2021.01.08

(21)申请号 201980024177.6

(22)申请日 2019.03.27

(30)优先权数据
62/652,880 2018.04.04 US
62/737,838 2018.09.27 US
62/812,568 2019.03.01 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2020.09.30

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/024371 2019.03.27

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/195055 EN 2019.10.10

(71)申请人 西吉隆医疗股份有限公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 R.J.米勒 L.E.巴尼 E.E.约翰斯顿 R.海德布雷赫特 M.博勒加德 O.维瑟 G.卡尔莫纳 F.C.冈萨雷斯 M.A.奥贝利 D.佩里特 D.M.史密斯 P.K.沃顿 O.奥康纳 J.A.塞维尔

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
代理人 张文辉

(51)Int.Cl.
A61K 9/50(2006.01)
C08B 37/00(2006.01)
A61K 35/00(2006.01)
C12N 5/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书89页
序列表81页 附图49页

(54)发明名称

可植入颗粒和相关方法

(57)摘要

本文描述的是包含第一室、第二室和具有式(I)的化合物的颗粒，以及组合物和制备和使用其的方法。这些颗粒可包含能够表达有用于治疗本文所述疾病、障碍或病症的治疗剂的细胞。

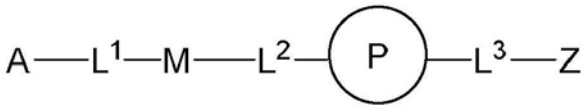
CN 112203646 A

1.一种颗粒,该颗粒包含:

a)第一室;

b)第二室;以及

c)具有式(I-a)的化合物:



(I-a),

或者其药学上可接受的盐,其中:

A是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-N(R^C)-、-N(R^C)C(O)-、-C(O)N(R^C)-、-N(R^C)N(R^D)-、-NCN-、-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-、-N(R^C)C(O)(C_2-C_6-亚烯基)-、-C(=N(R^C)(R^D))O-、-S-、-S(O)$_x$-、-OS(O)$_x$-、-N(R^C)S(O)$_x$-、-S(O)$_x$N(R^C)-、-P(R^F)$_y$-、-Si(OR^A)$_2$-、-Si(R^G)(OR^A)-、-B(OR^A)-、或金属,其中每一个任选地与连接基团(例如,本文所述的连接基团)连接并且任选地被一个或多个R^1取代;

L^1和L^3各自独立地是键、烷基或杂烷基,其中每个烷基和杂烷基任选被一个或多个R^2取代;

L^2是键;

M是不存在、烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基,其各自任选地被一个或多个R^3取代;

P是任选被一个或多个R^4取代的杂芳基;

Z是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基、其各自任选地被一个或多个R^5取代;

每个R^A、R^B、R^C、R^D、R^E、R^F和R^G独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、叠氮基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或多个R^6取代;

或R^C和R^D与它们所连接的氮原子一起形成任选地被一个或多个R^6取代的环(例如5-7元环);

每个R^1、R^2、R^3、R^4、R^5和R^6独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、叠氮基、氧代、-OR^{A1}、-C(O)OR^{A1}、-C(O)R^{B1}、-OC(O)R^{B1}、-N(R^{C1})(R^{D1})、-N(R^{C1})C(O)R^{B1}、-C(O)N(R^{C1})、SR^{E1}、S(O)$_x$$R^{E1}$、-OS(O)$_x$$R^{E1}$、-N($R^{C1}$)S(O)$_x$$R^{E1}$、-S(O)$_x$N($R^{C1}$)($R^{D1}$)、-P($R^{F1}$)$_y$、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基,其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或多个R^7取代;

每个R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}、R^{E1}和R^{F1}独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基任选地被一个或多个R^7取代;

每个R^7独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、氧代、羟基、环烷基、或杂环基;

x是1或2;并且

y是2、3或4。

2.如权利要求1所述的颗粒,其中该第一室被该第二室围绕。

3.如权利要求1-2中任一项所述的颗粒,其中该第二室围绕该第一室形成屏障。

4.如权利要求1-3中任一项所述的颗粒,其中该第二室的微分体积比该第一室的体积小,例如小1.5x、2x、3x或5x。

5.如权利要求1-4中任一项所述的颗粒,其中该第二室的微分体积比该第一室的体积小约1%、2%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、或75%。

6.如权利要求1所述的颗粒,该颗粒包含选自以下的性质:

a)该第一室包含具有式(I-a)的化合物;

b)该第二室包含具有式(I-a)的化合物;

c)具有式(I-a)的化合物设置在该颗粒的外表面上;和/或

d)该颗粒包含该第一和该第二室之间的界面,并且具有式(I-a)的化合物设置在该界面处。

7.如权利要求1所述的颗粒,其中该第一室或该第二室基本上不含具有式(I-a)的化合物。

8.如权利要求1所述的颗粒,该颗粒包含选自以下的性质:

a)该第一室基本上不含具有式(I-a)的化合物;

b)该第二室基本上不含具有式(I-a)的化合物;

c)该颗粒的外表面基本上不含具有式(I-a)的化合物;或

d)该颗粒包含该第一室和该第二室之间的界面,并且该界面基本上不含具有式(I-a)的化合物。

9.如权利要求1-8中任一项所述的颗粒,其中该颗粒具有在1毫米至5毫米之间、例如在1毫米至4毫米之间、在1毫米至3毫米之间、在1毫米至2毫米之间、或在1.5毫米至2毫米之间的最大线性尺寸(LLD),例如直径。

10.如权利要求1-9中任一项所述的颗粒,其中该第一室的外边界与该第二室的内边界之间的平均距离在500纳米和500微米之间。

11.如权利要求1-10中任一项所述的颗粒,其中该颗粒包含细胞。

12.如权利要求1-11中任一项所述的颗粒,其中该第一室包含细胞。

13.如权利要求1-11中任一项所述的颗粒,其中该第一室包含细胞,并且该第二室不包含细胞。

14.如权利要求11-13中任一项所述的颗粒,其中该颗粒包含至少$5x10^6$、$10x10^6$、$15x10^6$或$20x10^6$个细胞/mL。

15.如权利要求11-14中任一项所述的颗粒,其中该一个或多个细胞作为单细胞、一个或多个球状体存在,或与一个或多个微载体结合存在。

16.如权利要求1所述的颗粒,其中:

a)将一个或多个细胞设置在该第一室内;

b)将一个或多个细胞设置在该第二室内;

c)该第二室中细胞的数量或密度比该第一室中细胞的数量或密度低至少2、5、10、10^2、10^3或10^4倍;

d)该第一室(例如该第一室的外边界)包含具有式(I-a)的化合物;和/或

e)该第二室(例如该第二室的外边界)包含具有式(I-a)的化合物。

17.如权利要求11-16中任一项所述的颗粒，其中该细胞是上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、间充质干细胞或角质形成细胞。

18.如权利要求11-17中任一项所述的颗粒，其中该细胞是RPE(例如ARPE-19)细胞或MSC。

19.如权利要求11-17中任一项所述的颗粒，其中该细胞是胰岛细胞。

20.如权利要求11-19中任一项所述的颗粒，其中该细胞表达治疗剂(例如多肽)。

21.如权利要求20所述的颗粒，其中该多肽是因子VIII蛋白或其变体(例如，SEQ ID NO:1)或因子IX蛋白或其变体(例如，SEQ ID NO:2)。

22.如权利要求20所述的颗粒，其中该多肽是胰岛素(例如，胰岛素A链、胰岛素B链或胰岛素原)。

23.如权利要求1-22中任一项所述的颗粒，其中该颗粒包含聚合物。

24.如权利要求23所述的颗粒，其中该聚合物选自藻酸盐、壳聚糖、透明质酸盐、明胶，聚(L-乳酸)(PLLA)或聚(乳酸乙醇酸)(PLGA)。

25.如权利要求23-24中任一项所述的颗粒，其中该第一室包含聚合物(例如，多糖，例如藻酸盐)。

26.如权利要求23-25中任一项所述的颗粒，其中该第二室包含聚合物(例如，多糖，例如藻酸盐)。

27.如权利要求23-26中任一项所述的颗粒，其中该第一室和该第二室的聚合物都用具有式(I-a)的化合物修饰。

28.如权利要求1-27中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物是具有以下式中任一种的化合物：式(I-b)、(I-c)、(I-d)、(I-e)、(I-f)、(II)、(II-a)、(III)、(III-a)、(III-b)、(III-c)、或(III-d)，或其药学上可接受的盐。

29.如权利要求1-27中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物是表2中所示的化合物100、化合物101、化合物112、化合物113或化合物114。

30.如权利要求1所述的颗粒，其中该颗粒是水凝胶胶囊并且其中：

a)该第一室包含多个经工程化以表达多肽的细胞；

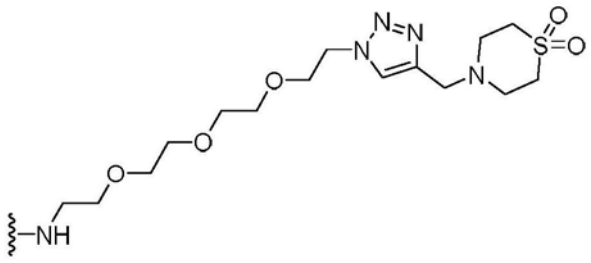
b)该第一室被该第二室围绕；

c)该第二室基本上不含细胞；以及

d)其中该颗粒的该第二室和外表面包含用具有式(I-a)的化合物修饰的藻酸盐。

31.如权利要求30所述的颗粒，其中该化学修饰的藻酸盐包含具有式(I-a)的化合物，该具有式(I-a)的化合物的量给该颗粒提供去纤维化性质和所需机械强度。

32.如权利要求30或31所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物是化合物101，其具有以下结构：



。

33.如权利要求32所述的颗粒，其中化合物101以如通过针对氮百分比的燃烧分析所确定的至少2.0％且小于9.0％氮气(N)(优选3.0％至8.0％、4.0％至7.0％，5.0％至7.0％，或6.0％至7.0％)的密度存在于化学修饰的藻酸盐中。

34.如权利要求30-31中任一项所述的颗粒，其中该第一室由缺少去纤维化化合物(例如，具有式(I-a)的化合物)的藻酸盐溶液形成。

35.如权利要求30-34中任一项所述的颗粒，其具有约1mm至约2mm的平均直径或约0.75mm至约1.0mm的平均直径。

36.如权利要求30-35中任一项所述的颗粒，其中该第一室由藻酸盐溶液形成，该藻酸盐溶液包含约1000万至约5000万个细胞/ml，5000万至约5亿个细胞/ml，约7500万至约4.5亿个细胞/ml，约1亿至约4.5亿个细胞/ml，约1亿至约4亿个细胞/ml，或约1亿至约3亿个细胞/ml。

37.如权利要求30-36中任一项所述的颗粒，其中这些细胞衍生自ARPE19细胞并且包含外源核苷酸序列，该外源核苷酸序列包含SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、和SEQ ID NO:28。

38.如权利要求37所述的颗粒，其中该外源核苷酸序列包含SEQ ID NO:23。

39.如权利要求37或38所述的颗粒，其中该外源核苷酸序列包含SEQ ID NO:15或SEQ ID NO:27。

40.如权利要求37或38所述的颗粒，其中该外源核苷酸序列包含SEQ ID NO:19或SEQ ID NO:28。

41.如权利要求1-40中任一项所述的颗粒，该颗粒通过包括方法制备，该方法包括使多个聚合物溶液液滴与水性交联溶液接触足以产生颗粒的一段时间，其中该交联溶液包含交联剂、缓冲液和渗透压调节剂。

42.多个颗粒的制剂，其中该多个颗粒包含权利要求1-41中任一项所述的颗粒。

43.如权利要求42所述的制剂，其中该制剂是药学上可接受的制剂。

44.一种制备本文所述的颗粒的方法，该颗粒是例如权利要求1-40中任一项所述的颗粒。

45.一种给受试者的颗粒组合物，其用于治疗需要物质例如多肽的受试者，该颗粒组合物包括：

提供本文所述的颗粒，例如，在实施例1-41中的任一项中所述的颗粒；该颗粒包含或有能力产生该物质；并且

将该颗粒置于该受试者体内。

可植入颗粒和相关方法

[0001] 优先权要求

[0002] 本申请要求2018年4月4日提交的美国临时申请号62/652,880、2018年9月27日提交的美国申请号62/737,838和2019年3月1日提交的美国申请号62/812,568的优先权。将前述申请中的每一个的披露内容通过援引以其整体并入本文。

[0003] 序列表

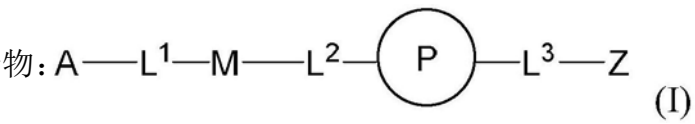
[0004] 本申请包含序列表,该序列表已经以ASCII格式以电子方式提交,并且特此通过援引以其整体并入。于2018年9月26日创建的所述ASCII副本命名为S2225-7022WO_SL.txt且大小为205,145字节。

背景技术

[0005] 包含工程化的细胞的植入颗粒的功能取决于许多因素,包括提供产物的能力和受体的生物免疫应答途径(Anderson等人,Semin Immunol[种子免疫学](2008)20:86-100;Langer,Adv Mater[先进材料](2009)21:3235-3236)。植入后这些颗粒的性能在很大程度上取决于它们的生物相容性,包括它们的去纤维化程度,例如能够避免或减轻异物应答。一些出版物报道,通过使用直径至少为1毫米的球形胶囊,例如毫胶囊(millicapsules)(Veiseh,O.,等人,Nature Materials[自然材料]14:643-652(2015);WO 2014/153126;WO2016/187225)和/或使用利用形成水凝胶的聚合物(其用减轻FBR的某些化合物进行了化学修饰)制备的球形胶囊(Vegas,A.,等人,Nature Medicine[自然药物]22(3):306-311(2016),Vegas,A.,et al.,Nature Biotechnology[自然生物技术]34(3):345-352(2016);WO 2012/167223;WO 2017/075631)可以显着减少在啮齿动物和非人灵长动物中植入的水凝胶胶囊的异物反应(FBR)。

发明内容

[0006] 本文描述的是包含第一室,第二室和具有式(I)的化合物(例如,如本文所述)的颗粒,以及制备和使用其的组合物和方法。在一些实施例中,该颗粒包含细胞(例如,本文所述的细胞)。在一些实施例中,该细胞产生可用于治疗受试者的疾病、障碍或病症(例如血液凝结障碍或溶酶体贮积病)的治疗剂。在一些实施例中,该颗粒能够调节受试者的免疫应答(例如,FBR)或免疫应答(例如,FBR)的作用。

[0007] 在一个方面,本发明的特征在于一种颗粒,其包含a)第一室;b)第二室;和c)具有式(I)的化合物:
(I)
或其药学上可接受的盐,其中变量A、L^1、M、L^2、P、L^3和Z以及相关的子变量如本文所定义。在一些实施例中,该第一室被第二室围绕。在一些实施例中,该第二室形成围绕第一室的屏障。在一些实施例中,该第一室包含具有式(I)的化合物。在一些实施例中,该第二室包含具有式(I)的化合物。在一些实施例中,该第一室和第二室中的每一个独立地包含具有式(I)的化合物。在一些实施例中,

具有式(I)的化合物设置在该颗粒的外表面上。

[0008] 在一些实施例中,具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐(例如,式(I-a)、(I-b)、(I-c)、(I-d)、(I-e)、(I-f)、(II)、(II-a)、(III)、(III-a)、(III-b)、(III-c)、或(III-d))是本文所述的化合物。在一些实施例中,具有式(I)的化合物是本文表2中所示的化合物之一。

[0009] 在一些实施例中,该颗粒中的至少一个室包含聚合物。在一些实施例中,该颗粒的第一室和第二室均包含聚合物(例如,多糖,例如藻酸盐)。在一些实施例中,该颗粒的第一室和第二室包含相同的聚合物。在一些实施例中,该颗粒的第一室和第二室包含不同的聚合物。

[0010] 在一些实施例中,聚合物是多糖或其他形成水凝胶的聚合物(例如,藻酸盐,透明质酸盐或软骨素)。在一些实施例中,该聚合物是藻酸盐。在一些实施例中,该颗粒包含用具有式(I)的化合物化学修饰的藻酸盐。在一些实施例中,化学修饰的藻酸盐具有低分子量(例如,<75kD的大致分子量)。在一些实施例中,该颗粒包含化学修饰的藻酸盐和未经修饰的藻酸盐的混合物。在一些实施例中,该颗粒是水凝胶胶囊。在一些实施例中,该颗粒是毫胶囊或微胶囊(例如,水凝胶毫胶囊或水凝胶微胶囊)。

[0011] 在一些实施例中,该颗粒是球形的。在一些实施例中,该第二室的总体积(如本文所定义)比该第一室的体积大(例如>1.5x、2x、3x或5x)。在一些实施例中,该第二室的微分体积(如本文所定义)比该第一室的体积小(例如<1.5x、2x、3x或5x)。在一些实施例中,该第二室的总体积比该第一室的体积大约1%、2%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、或75%。在一些实施例中,该第一室的微分体积比该第二室的体积大(例如,>1.5x、2x、3x或5x)。在一些实施例中,该第一室的总体积比该第二室的体积大约1%、2%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、或75%。

[0012] 在一些实施例中,该颗粒具有约20纳米至约10毫米的最大线性尺寸(LLD),例如直径。在一些实施例中,该颗粒的最大线性尺寸(LLD)(例如直径)为在约500纳米至约10毫米之间,在约1毫米至10毫米之间,在约1毫米至5毫米之间,在约1毫米至约4毫米之间,在约1毫米至3毫米之间,在约1毫米至2毫米之间,或在约1.5毫米至2毫米之间或约1.5毫米。

[0013] 在一些实施例中,第二(外)室的外边界与界面之间的平均距离在约1纳米和1毫米之间,例如,在约100纳米和1毫米之间,在约500纳米和约1毫米之间,或者在约500纳米和500微米之间。

[0014] 在一些实施例中,该颗粒包含细胞。在一些实施例中,该第一室包含细胞和/或该第二室包含细胞。在一些实施例中,该第一室和该第二室均包含相同类型的细胞或不同类型的细胞。在一些实施例中,该第一室包含细胞和该第二室不包含细胞。本文描述的颗粒可包含多个细胞。该细胞或多个细胞可以作为单细胞、细胞簇(例如,作为球状体)存在于该颗粒中,或附着于微载体。在一些实施例中,该颗粒由聚合物溶液形成,并且包含500万、1000万、1500万、2000万、3000万、4000万、5000万、7500万、1亿、1.5亿、2亿、2.5亿或4亿个细胞/ml聚合物溶液中的至少任一个或这些值之间的任何数字。在一些实施例中,该颗粒包含上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、间充质干细胞、角质形成细胞或胰岛细胞或衍生自任何前述细胞类型的细胞。在一些实施例中,该颗粒包含视网膜色素上皮细胞(RPE细胞)或间充质

干细胞(MSC)。在一些实施例中,该颗粒包含工程化的细胞(例如,工程化的RPE细胞或工程化的MSC)。

[0015] 在一些实施例中,该颗粒包含表达治疗剂(例如核酸(例如,核苷酸、DNA或RNA)、多肽、脂质、糖(例如,单糖、二糖、寡糖、或多糖)或小分子)的细胞。在一些实施例中,该治疗剂是例如有用于治疗受试者中的凝血障碍或溶酶体贮积病的替代疗法或替代蛋白。在一些实施例中,治疗剂是多肽,例如因子VIII蛋白或其变体或因子IX蛋白或其变体。

[0016] 在另一方面,本发明的特征在于多个颗粒的制备,其中所述多个颗粒中的一个或多个颗粒包含:a)第一室;b)第二室;c)如本文所述的具有式(I)的化合物。在一些实施例中,该多个中的每个颗粒包含第一和第二室和具有式(I)的化合物。在一些实施例中,该多个中的至少75%、80%、85%、90%、95%、99%或更多颗粒是球形颗粒。在一些实施例中,制剂是药学上可接受的制剂。

[0017] 在另一方面,本发明的特征在于制备本文所述颗粒的方法。在一些实施例中,该颗粒的第一室与该颗粒的第二室同时形成。在一些实施例中,该方法包括使用配备有同轴针头的静电液滴发生器以从第一和第二聚合物溶液形成多个液滴,该第一和第二聚合物溶液包含形成水凝胶的聚合物或形成水凝胶的聚合物的混合物。在一些实施例中,该聚合物或聚合物的混合物用具有式(I)的化合物修饰。在一些实施例中,该聚合物是藻酸盐。在一些实施例中,该方法还包括使液滴与包含多价阳离子的交联溶液接触以使每个液滴交联进入颗粒(例如,具有内室和外室的水凝胶胶囊)。在一些实施例中,交联溶液包含交联剂、缓冲液和渗透压调节剂。在一些实施例中,交联溶液还包含表面活性剂。

[0018] 在另一方面,本发明的特征在于将本文所述颗粒植入受试者的方法。在另一个方面,本公开内容的特征在于向受试者提供物质(例如,治疗剂,例如多肽)的方法,该方法包括向该受试者施用本文所述的颗粒,其中该颗粒包含该物质或具有能力产生该物质。在另一个方面,本公开内容的特征在于治疗需要物质(例如,治疗剂,例如多肽)的受试者的方法,该方法包括向该受试者施用本文所述的颗粒,其中该颗粒包含该物质或具有能力产生该物质。在一些实施例中,施用步骤包括在受试者中植入包含多个颗粒的药学上可接受的制剂,每个颗粒包含该物质或具有能力产生该物质。在一些实施例中,该受试者是哺乳动物(例如人)。

[0019] 在另一方面,本发明的特征在于评估本文所述颗粒的方法。在一些实施例中,该方法包括提供本文所述的颗粒并评估颗粒的结构或功能参数。在一些实施例中,该方法包括评估本文所述的颗粒或多个颗粒的以下中一个或多个:a)结构完整性;b)细胞活力;c)治疗剂(例如多肽)的产生;d)营养素或氧气的摄取;e)废物的产生;和f)纤维化。在一些实施例中,在形成颗粒或将颗粒施用受试者后至少1、5、10、20、30、60、90或120天进行评估。在一些实施例中,该受试者是哺乳动物(例如人)。

[0020] 在此阐述了本公开的一个或多个实施例的细节。根据具体实施方式、附图、实例和权利要求,本公开的其他特征、目的和优点将显而易见。

附图说明

[0021] 图1说明了本披露的示例性球形颗粒,其中线表示:第一内室和封装在其中的细胞;具有外边界的第二外室;以及第一和第二室之间的界面。

[0022] 图2A-2B显示由示例性工程化的细胞编码的示例性氨基酸序列,其中图2A显示由示例性工程化的细胞编码的因子VIII-BDD蛋白的氨基酸序列(SEQ ID NO:1)并且图2B显示人野生型因子IX蛋白的氨基酸序列(SEQID NO:2)。

[0023] 图3是图,其比较作为等效细胞负载量(百万细胞/ml藻酸盐)的函数的单室和二室水凝胶胶囊的质量,其中ml藻酸盐是用于制备二室胶囊的第一(内)室和第二(外)室的藻酸盐的总和。

[0024] 图4A-4B显示改变挤出的藻酸盐的流速对本披露的示例性颗粒(即,二室水凝胶毫胶囊)的第二(外)室的厚度的影响。图4A是图,其显示通过改变用于形成第一(内)室和第二(外)室的聚合物溶液的流速而产生的颗粒(约1.5毫米(mm)直径)的平均第二(外)室厚度。图4B是第一(内)室和第二(外)室体积百分比以及得到的室厚度的表格。

[0025] 图5是图,其显示本披露的具有不同的内;外流速比(ml/h)的示例性颗粒(即,二室水凝胶毫胶囊)的初始破裂。第一室(内)中的聚合物是未经修饰的高分子量藻酸盐,第二室(外)中的聚合物是化学修饰的低分子量藻酸盐和未经修饰的高分子量藻酸盐的混合物,其中化学修饰的藻酸盐:未经修饰的藻酸盐的比例为70:30。

[0026] 图6A-6D是具有50:50的内:外室体积比的示例性颗粒(即,二室水凝胶毫胶囊)的明场图像。第二(外)室含有低、中或高共轭藻酸盐或对照(未经修饰的)藻酸盐。将工程化以表达外源蛋白的示例性RPE细胞包封在第一(内)室中用于二室结构的可视化。

[0027] 图7A-7F说明了改变示例性颗粒(即,二室水凝胶毫胶囊)的第二(外)室的藻酸盐的化学修饰水平对体内纤维化的影响。图7A-7E是植入后1周从C57/BL6小鼠回收的颗粒的明场图像。在第一(内)室内含有工程化的RPE细胞的颗粒具有由以下构成的第二(外)室:(i)低、中或高水平的与藻酸盐共轭的具有式(I)的化合物,(ii)未经修饰的藻酸盐,或(iii)由中等水平与藻酸盐共轭的具有式(I)的化合物构成的空胶囊。图7F是图,其比较在小鼠模型中植入之前(初始,黑条)和在C57/BL6小鼠中植入7天后回收之后(回收,灰色条)的颗粒平均初始破裂的图。

[0028] 图8A-8E是比较各种水凝胶毫胶囊及其对纤维化应答的影响的图像。示意图是显示在植入2周后从C57/BL6小鼠回收的毫胶囊。图8A:不含细胞的空胶囊。图8B:一室胶囊,具有5000个细胞/胶囊;图8C:二室胶囊,具有5000个细胞/颗粒:图8D:二室胶囊,具有2500个细胞/胶囊;图8E:二室胶囊,具有2500个细胞/胶囊和更厚的第二(外)室。

[0029] 图9A-9K是免疫荧光染色图像,其在植入C57/BL6小鼠中后1周、2周和4周比较在第二(外)室中具有不同(低、中或高)量的化学修饰的藻酸盐的示例性颗粒(即,二室水凝胶毫胶囊)上的体内巨噬细胞粘附水平。在这些实验中包括阳性对照(SLG20:未经修饰的中等MW藻酸盐)和阴性对照(空胶囊)。

[0030] 图10A-10E是明场图像,其表示植入C57/BL6小鼠中后2周示例性颗粒(即,二室水凝胶毫胶囊)的纤维化应答水平。颗粒在第二(外)室中包含不同(中,中高,高或双高)量的化学修饰的藻酸盐。还包括在第二(外)室中具有中等量的化学修饰的藻酸盐的阴性对照(空)胶囊。

[0031] 图11是图,其比较在小鼠模型中植入之前(初始,黑条)和在C57/BL6小鼠中植入2周后回收之后(回收,灰色条)的颗粒平均初始破裂的图。颗粒在第二(外)室中包含不同(中,中高,高或双高)量的化学修饰的藻酸盐。包括在第二(外)室中具有中等量的化学修饰

的藻酸盐的阴性对照(空)胶囊。

[0032] 图12A-12C是明场图像,其指示在C57/BL6小鼠中植入后2周,具有在第二(外)室中的变化(中等或高)量的化学修饰的藻酸盐或具有在第二(外部)室中的非共轭的去纤维化小分子(例如,具有式(I)的化合物)("回加胺"的胶囊)的示例性颗粒(即,二室水凝胶毫胶囊)的体内纤维化应答水平。

[0033] 图13A-13F是免疫荧光染色图像,其比较具有不同的第二(外)室的示例性颗粒(即,二室水凝胶毫胶囊)上的体内巨噬细胞粘附水平。第二(外)室由化学修饰的低分子量(CM-LMW)藻酸盐与未经修饰的高分子量(U-HMW)藻酸盐的70:30或60:40比例共混物(并且在第二(外)室中还具有变化(中等,中高或高)量的化学修饰的藻酸盐)制备。

[0034] 图14A-14D是包封后培养1周的在一室或二室水凝胶毫胶囊中的包封的HEK293F细胞的明场图像。图14A-14B对应于一室或二室胶囊的图像。图14C-14D对应于培养表面的图像,以在37℃温育1周后鉴定未包含在胶囊中的细胞。

[0035] 图15A-15C说明了二室水凝胶毫胶囊的FIX体内表达水平与胶囊的内室中ARPE-19:FIX细胞浓度之间的相关性。图15A显示在植入IP空间小鼠之前(初始)和在植入后5天回收后(回收)用不同细胞负载浓度制备的胶囊中的细胞数。图15B和15C分别显示由植入的胶囊产生的血浆和IP流体中的FIX水平。

[0036] 图16A-16C说明了二室水凝胶毫胶囊的FIX体内表达水平、胶囊的内室中ARPE-19:FIX细胞浓度和胶囊完整性之间的相关性。图16A显示植入胶囊的小鼠的IP流体中的FIX水平。图16B是在植入前(初始)和回收时间点用646M/ml细胞制备的胶囊的明场图像。

[0037] 图17显示表4-8治疗性多肽的示例性氨基酸序列和编码序列以及用于工程化RPE细胞的示例性表达载体内的核苷酸序列。

[0038] 图18A-18B是示例性颗粒((即,直径约0.75mm(图18A)或直径约1.0mm(图18B)的二室水凝胶胶囊,内:外室体积比为50:50)的明场图像。第一(内)和第二(外)室中的每一个含有中等共轭藻酸盐。将工程化以表达外源蛋白的示例性RPE细胞包封在第一(内)室中用于二室结构的可视化。

具体实施方式

[0039] 本披露特征包含第一室,第二室和具有式(I)的化合物(例如,如本文所述)的颗粒,以及制备和使用其的组合物和方法。在一些实施例中,这些颗粒及其组合物有用于预防或治疗疾病、障碍或病症。在一些实施例中,配置为包含第一水凝胶室和第二水凝胶室和具有式(I)的化合物的水凝胶毫胶囊的颗粒显示出有利的性质,例如,它们比缺少具有式(I)的化合物但包含相同类型的聚合物和基本相同的尺寸的类似的毫胶囊更具去纤维化性,并且与含有单个室的毫胶囊相比可以容纳更多数量的细胞,对胶囊质量的不利影响最小。在一些实施例中,本文所述的颗粒包含产生适于治疗受试者的疾病、障碍或病症的治疗剂(例如,多肽)的细胞(例如,工程化的细胞)。

[0040] 缩写和定义

[0041] 贯穿本披露的详细描述和实例,将使用以下缩写。

[0042] CM-Alg 化学修饰的藻酸盐

[0043] CM-LMW-Alg 化学修饰的低分子量藻酸盐

[0044] CM-LMW-Alg-101 用表2中所示的化合物101化学修饰的低分子量藻酸盐

[0045] CM-HMW-Alg 化学修饰的高分子量藻酸盐

[0046] CM-HMW-Alg-101 用表2中所示的化合物101化学修饰的高分子量藻酸盐

[0047] CM-MMW-Alg 化学修饰的中等分子量藻酸盐

[0048] CM-MMW-Alg-101 用表2中所示的化合物101化学修饰的中等分子量藻酸盐

[0049] HMW-Alg 高分子量藻酸盐

[0050] MMW-Alg 中等分子量藻酸盐

[0051] U-Alg 未经修饰的藻酸盐

[0052] U-HMW-Alg 未经修饰的高分子量藻酸盐

[0053] U-LMW-Alg 未经修饰的低分子量藻酸盐

[0054] U-MMW-Alg 未经修饰的中等分子量藻酸盐

[0055] 70:30CM-Alg:U-Alg 化学修饰的藻酸盐和未经修饰的藻酸盐的70:30混合物(V:V)

[0056] 因此,可以更容易地理解本公开,本文使用的某些技术和科学术语在下面具体定义。除非在本文件的其他地方具体定义,否则本文使用的所有其他技术和科学术语具有本公开所属领域的普通技术人员通常理解的含义。

[0057] 如本文所用,包括所附权利要求,诸如“一”,“一个”和“该”的单数形式包括它们相应的复数指代,除非上下文另有明确说明。

[0058] “约”,当在本文中用于修饰数值定义的参数(例如,水凝胶胶囊的物理描述,例如直径,球度,颗粒中的细胞数量,制剂中的颗粒数量)时,意指该参数可以比该参数的规定数值高或低15%。例如,定义为具有约1.5毫米(mm)直径并包封约5百万(M)个细胞的水凝胶胶囊可具有1.275至1.725mm的直径,并可包封约4.25M至5.75M个细胞。在一些实施例中,约意味着参数可以在该参数的所述数值之上或之下变化多达10%。

[0059] 如本文使用的“获得”(“acquire”或“acquiring”)是指通过“直接获得”或“间接获得”值或物理实体来获得值(例如,数值)或图像或物理实体(例如,样品)。“直接获得”意指执行一个过程(例如,执行分析方法或方案)来获得值或物理实体。“间接获得”是指从另一方或来源(例如,直接获得物理实体或值的第三方实验室)接收值或物理实体。直接获得值或物理实体包括执行包括实物的物理变化的过程或使用机器或装置。直接获得值的实例包括从人类受试者获得样品。直接获得值包括执行使用机器或设备的过程,例如荧光显微镜以获取荧光显微镜数据。

[0060] 如本文所用,“施用(administer、administering或administration)”是指植入、吸收、摄取、注射或以其他方式引入本文所述的实体(例如,包含第一室、第二室和具有式(I)的化合物的颗粒(包括包封细胞例如工程化的RPE细胞的颗粒),或包含所述颗粒的组合物),或将其提供给受试者。

[0061] 如本文所用,“去纤维化(Afibrotic)”是指减轻异物反应(FBR)的化合物或材料。例如,通过植入包含去纤维化化合物(例如,具有式(I)的化合物,例如表2中列出的化合物)的颗粒(例如,水凝胶胶囊)的组织诱导的生物组织中的FBR的量低于通过植入去纤维化无效参考颗粒(即,缺乏去纤维化化合物或材料但具有基本相同的组成(例如,相同的细胞类型)和结构(例如,尺寸,形状,室的数量,相同的包封聚合物等)的颗粒)诱导的FBR。在实施

例中，通过含有植入颗粒(例如，水凝胶胶囊)的组织中的免疫应答来评估FBR的程度，其可以包括例如蛋白质吸附、巨噬细胞、多核异物巨细胞、成纤维细胞和血管生成，该评估使用本领域已知的测定，例如，如WO 2017/075630中所述，或使用Vegas，A.，等人.，Nature Biotechnol[自然生物技术](同上)中描述的一种或多种测定/方法(例如，植入胶囊的皮下组织蛋白酶测量，Massons三色(MT)，组织切片苏木精或伊红染色，胶原密度定量，细胞染色和巨噬细胞共聚焦显微镜检查(CD68或F4/80)，肌成纤维细胞(α-肌肉肌动蛋白，SMA)或一般细胞沉积，已知炎症因子和免疫细胞标志物的79个RNA序列的定量，或在合适的受试者(例如免疫活性小鼠)的腹膜内空间中的设定时间段(例如，14天)后对回收的颗粒(例如胶囊)上的巨噬细胞和中性粒细胞进行FACS分析。在实施例中，通过测量含有一种或多种免疫应答生物标志物(例如组织蛋白酶、TNF-α、IL-13、IL-6、G-CSF、GM-CSF、IL-4、CCL2、或CCL4)的植入物在组织中的水平来评估FBR。在实施例中，由本文所述颗粒(例如，包含置于外室中和/或表面上的去纤维化化合物的二室水凝胶胶囊)诱导的FBR比由FBR无效参考颗粒(与要求保护的颗粒基本相同(除了缺少去纤维化化合物或材料，但在其它方面基本上与要求保护的颗粒相同)的颗粒)诱导的FBR低至少约80％、约85％、约90％、约95％、约99％或约100％。在一些实施例中，在约30分钟、约1小时、约6小时、约12小时、约1天、约2天、约3天、约4天、约1周、约2周、约1个月、约2个月、约3个月、约6个月后测量由植入颗粒诱导的FBR(例如，FBR生物标记物水平)。

[0062] 如本文所用，“细胞”是指工程化的细胞或未经工程化的细胞。在一个实施例中，细胞是永生化细胞。

[0063] 如本文所用，“保守修饰的变体”或“保守取代”是指参考肽或与参考分子相同的多肽的变体，除了在其氨基酸序列中具有一个或多个保守氨基酸取代。在实施例中，保守地修饰的变体由与参考氨基酸序列至少70％、80％、85％、90％、95％、97％、98％或99％相同的氨基酸序列组成。保守氨基酸取代是指用具有相似特征(例如电荷、侧链大小、疏水性/亲水性、骨架构象和刚性等)的氨基酸取代氨基酸，并且对得到的取代肽或多肽的生物活性的影响最小。功能相似的氨基酸的保守取代表是本领域熟知的，并且通过功能特征分组的示例性取代列于下表1中。

[0064] 表1.示例性保守氨基酸取代基团。

[0065]

特征	保守氨基基团
电荷/极性	His、Arg、Lys
	Asp、Glu
	Cys、Thr、Ser、Gly、Asn、Gln、Tyr
	Ala、Pro、Met、Leu、Ile、Val、Phe、Trp

[0066]

疏水性	Asp、Glu、Asn、Gln、Arg、Lys
	Cys、Ser、Thr、Pro、Gly、His、Tyr
	Ala、Met、Ile Leu、Val、Phe、Trp
结构/表面暴露	Asp、Glu、Asn、Aln、His、Arg、Lys
	Cys、Ser、Tyr、Pro、Ala、Gly、Trp、Tyr
	Met、Ile、Leu、Val、Phe
二级结构倾向	Ala、Glu、Aln、His、Lys、Met、Leu、Arg
	Cys、Thr、Ile、Val、Phe、Tyr、Trp
	Ser、Gly、Pro、Asp、Asn
进化上保守	Asp、Glu
	His、Lys、Arg
	Asn、Gln
	Ser、Thr
	Leu、Ile、Val
	Phe、Tyr、Trp
	Ala、Gly
	Met、Cys

[0067] 如在整个说明书和权利要求书中所使用的，“基本上由……组成(consists essentially of)”，并且诸如“基本上由……组成(consist essentiallyof)”或“基本上由……组成(consisting essentially of)”的变体表示包括任何列举的要素或要素组，以及可任选地包括与所述元素具有相似或不同的性质的其他要素(其不会实质上改变特定分子、组合物、颗粒或方法的基本或新颖性质)。作为非限制性实例，基本上由所述氨基酸序列组成的治疗性蛋白还可以包括一个或多个氨基酸，该一个或多个氨基酸包括所述氨基酸序列中的一个或多个氨基酸残基的取代，其各自不会实质上影响治疗性蛋白的相关生物活性。作为另一个非限制性实例，基本上由所述氨基酸序列组成的多肽可含有一个或多个共价连接的部分(例如放射性或荧光标记)，其不会实质上改变多肽的相关生物学活性。

[0068] 如本文关于一个或多个细胞所用，“衍生自”是指从组织、细胞系或其他细胞获得的一个或多个细胞，其任选随后被培养、传代、永生化、分化和/或诱导以产生一个或多个衍生的细胞。

[0069] 如本文所用，“微分体积”是指颗粒内的一个室的体积，其排除由另一个或多个室占据的空间。例如，2室颗粒中的第二室的微分体积是指第二(例如，外)室内的排除第一室占据的空间的体积。

[0070] 如本文所用，“有效量”是指颗粒(例如颗粒组合物)或颗粒组分(例如细胞，例如工程化的细胞，或由细胞(例如工程化的细胞)产生的试剂，例如治疗剂)的组合物的足以引发生物应答(例如治疗疾病、障碍或病症)的量。在一些实施例中，术语“有效量”是指颗粒组分的量，例如颗粒中的细胞数，设置在颗粒表面和/或外室中的去纤维化化合物的浓度或密度。如本领域普通技术人员所理解的，有效量可以根据诸如所需的生物学终点、治疗剂的药

代动力学、组合物或颗粒、所治疗的病症、施用方式和受试者的年龄和健康状况等因素而变化。有效量涵盖治疗性和预防性处理。例如，为了减轻由颗粒诱导的FBR，去纤维化有效量的具有式(I)化合物可以减少纤维化或阻止纤维化组织在植入颗粒上或附近的生长或扩散。可以通过本领域已知的或本文描述的任何技术测定颗粒、组合物或其组分(例如，去纤维化化合物，例如，去纤维化聚合物)的去纤维化有效量。

[0071] 如本文所用的“内源核酸”是天然存在于受试细胞中的核酸。

[0072] 如本文所用，“内源多肽”是天然存在于受试细胞中的多肽。

[0073] 如本文所用，“工程化的细胞”是具有非天然存在的改变的细胞(例如，RPE细胞)，并且通常包含与在相似条件下未工程化(外源核酸序列)的在其他方面类似地细胞相比不存在(或以不同水平存在)的核酸序列(例如DNA或RNA)或多肽。在实施例中，工程化的细胞包含外源核酸(例如载体或改变的染色体序列)。在实施例中，工程化的细胞包含外源多肽。在实施例中，工程化的细胞包含外源核酸序列，例如不存在于未工程化的类似细胞中的序列，例如DNA或RNA。在实施例中，外源核酸序列是染色体的，例如，外源核酸序列是置于内源染色体序列中的外源序列。在实施例中，外源核酸序列是染色体或染色体外的，例如非整合的载体。在实施例中，外源核酸序列包含RNA序列，例如mRNA。在实施例中，外源核酸序列包含染色体或染色体外外源核酸序列，其包含表达为RNA例如mRNA或调节性RNA的序列。在实施例中，外源核酸序列包含染色体或染色体外核酸序列，其包含编码多肽的序列，或表达为多肽的序列。在实施例中，外源核酸序列包含第一染色体或染色体外外源核酸序列，其调节第二核酸序列的构象或表达，其中第二氨基酸序列可以是外源的或内源的。例如，工程化的细胞可包含控制内源序列表达的外源核酸。在实施例中，工程化的细胞包含以一定水平或分布存在的多肽，其不同于未经工程化的类似细胞中发现的水平。在实施例中，工程化的细胞包含经工程改造以提供RNA或多肽的RPE细胞。例如工程化的细胞可以包含外源核酸序列，该外源核酸序列包含染色体或染色体外外源核酸序列，其包含表达为RNA例如mRNA或调节性RNA的序列。在实施例中，工程化的细胞(例如，RPE细胞)包含外源核酸序列，该外源核酸序列包含染色体或染色体外核酸序列，其包含编码多肽或表达为多肽的序列。在实施例中，工程化的细胞(例如，RPE细胞)包含调节内源序列的构象或表达的外源核酸序列。

[0074] 如本文所用的“外源核酸，”是不天然存在于受试细胞中的核酸。

[0075] 如本文所用，“外源多肽”是不天然存在于受试细胞中的多肽。

[0076] 如本文所用，“因子VII蛋白”或“FVII蛋白”是指包含天然存在的因子VII蛋白或其具有如通过本领域内公认的测定而确定的FVII生物活性例如促进血液凝固的变体的氨基酸序列的多肽(除非另有说明)。天然存在的FVII作为单链酶原、酶原样双链多肽和完全活化的双链形式(FVIIa)存在。一些实施例中，对FVII的提及包括其单链和双链形式，包括酶原样和FVIIa。可由本文所述的颗粒(例如，含有工程化的RPE细胞的二室水凝胶胶囊)产生的FVII蛋白包括野生型灵长类动物(例如人)、猪、犬和鼠蛋白以及这种野生型蛋白质的变体，包括片段、突变体、具有一个或多个氨基酸取代和/或缺失的变体。在一些实施例中，变体FVII蛋白能够被激活成完全激活的双链形式(因子VIIa)，其具有野生型因子VIIa的至少50％、75％、90％或更多(包括>100％)的活性。FVII和FVIIa的变体是已知的，例如，marzeptacog alfa(激活的)(MarzAA)和欧洲专利号1373493、美国专利号7771996、美国专利号9476037和美国公开申请号US 20080058255中描述的变体。

[0077] 除非另有说明,因子FVII生物活性可通过本领域公认的测定法定量。例如,生物流体(例如血浆)样品中的FVII生物活性可以通过以下定量(i)测量在包含嵌入脂质膜中的TF的系统中产生的因子Xa、和因子X的量(Persson等人,J.Biol.Chem[生物化学杂志].272:19919-19924,1997);(ii)测量含水体系中的因子X水解;(iii)使用基于表面等离子体共振的仪器测量其与组织因子(TF)的物理结合(Persson,FEBS Letts.[FEBS通讯]413:359-363,1997);或(iv)测量合成基质的水解;和/或(v)在TF非依赖性体外系统中测量凝血酶的产生。在实施例中,通过市售的显色测定法(BIOPHEN FVII,HYPHEN BioMed Neuville sur Oise,法国)评估FVII活性,其中含有FVII的生物样品与促凝血酶原激酶钙、因子X和SXa-11(因子Xa特异性的生色底物)混合。

[0078] 如本文所用,“因子VIII蛋白”或“FVIII蛋白”是指包含天然存在的因子VIII多肽或其具有如通过本领域内公认的测定而确定的FVIII生物活性例如凝血活性的变体的氨基酸序列的多肽(除非另有说明)。可由本文所述颗粒(例如含有工程化的RPE细胞的二室水凝胶胶囊)表达的FVIII蛋白包括野生型灵长类动物(例如人)、猪、犬和鼠蛋白,以及这类野生型蛋白变体,包括片段、突变体、具有一个或多个氨基酸取代和/或缺失的变体、B结构域缺失(BDD)变体、单链变体和任何前述野生型或变体与延长半衰期的多肽的融合体。在实施例中,将细胞工程化以编码具有B结构域的完全或部分缺失的前体因子VIII多肽(例如,具有信号序列)。在实施例中,将细胞工程化以编码单链因子VIII多肽。变体FVIII蛋白优选具有相对应的野生型因子VIII的凝血活性的至少50%、75%、90%或更多(包括>100%)。用于测量FVIII蛋白的凝结活性的测定包括一阶段或两阶段凝结测定(Rizza等人,1982,Bloom编辑的FVIII:C和FIXa的凝结测定(Coagulation assay of FVIII:C and FIXa in Bloom ed.)The Hemophelias[血友病].NY Churchill Livingston公司1992)或发色底物FVIII:C测定(the chromogenic substrate FVIII:C assay)(Rosen,S.1984.Scand J Haematol[扫描血液学杂志]33:139-145,增刊)

[0079] 许多FVIII-BDD变体是已知的,并且包括例如具有以下任何美国专利号中公开的全部或部分B结构域缺失的变体:4,868,112(例如,第2栏第2行至第19栏第21行和表2);5,112,950(例如,第2栏第55-68行,图2和实例1);5,171,844(例如,第4栏第1行22至第5栏第36行);5,543,502(例如,第2栏第17-46行);5,595,886;5,610,278;5,789,203(例如,第2栏第26-51行和实施5-8);5,972,885(例如,第1栏第25行至第2栏第40行);6,048,720(例如,第6栏第1-22行和实例1);6,060,447;6,228,620;6,316,226(例如,第4栏第4行至第5栏第28行和实例1-5);6,346,513;6,458,563(例如,第4栏第25-53行)和7,041,635(例如,第2栏第1行至第3栏第19行,第3栏第40行至第4栏第67行,第7栏第43行至第8栏第26行和第11栏第5行至第13栏第39行)。

[0080] 在一些实施例中,由本文所述的颗粒产生的FVIII-BDD蛋白(例如,由包含在颗粒中的工程化的细胞表达)在B结构域中具有一个或多个以下氨基酸缺失:(i)大多数B结构域,除了将初级翻译产物细胞内加工成两条多肽链所必需的氨基末端B结构域序列之外的(WO 91/09122);(ii)缺失氨基酸747-1638(Hoeben R.C.,等人J.Biol.Chem.[生物化学杂志]265(13):7318-7323(1990));氨基酸771-1666或氨基酸868-1562(Meulien P.,等人.Protein Eng.[蛋白质工程]2(4):301-6(1988);氨基酸982-1562或760-1639(Toole等人.,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.[美国国家图书馆院刊]83:5939-5942(1986));氨基酸

797-1562(Eaton等人.,Biochemistry[生物化学]25:8343-8347(1986));741-1646((Kaufman,WO 87/04187)),747-1560(Sarver等人.,DNA 6:553-564(1987));氨基酸741-1648(Pasek,WO 88/00831)),氨基酸816-1598或741-1689(Lagner(Behring Inst.Mitt.(1988)No 82:16-25,EP 295597);包含弗林蛋白酶识别序列中的一个或多个残基的缺失,例如氨基酸1643-1648处的LKRHQR,包括美国专利号9,956,269第10栏第65行到第11栏第36行中所述的任何特定缺失。

[0081] 在其他实施例中,FVIII-BDD蛋白保留以下任何B结构域氨基酸或氨基酸序列:(i)B结构域中的一个或多个N-连接的糖基化位点,例如残基757、784、828、900、963或任选的943,前226个氨基酸或前163个氨基酸(Miao,H.Z.,等人.,Blood[血液]103(a):3412-3419(2004),Kasuda,A.,等人.,J.Thromb.Haemost[血栓形成和止血杂志].6:1352-1359(2008),和Pipe,S.W.,等人.,J.Thromb.Haemost[血栓形成和止血杂志].9:2235-2242(2011)。

[0082] 在一些实施例中,FVIII-BDD蛋白是通过取代弗林蛋白酶识别序列中的一个或多个氨基酸(氨基酸1643-1648处的LKRHQR)产生的单链变体,其阻止该位点处的蛋白水解切割,该取代包括美国专利号10,023,628、9,394,353和9,670,267中描述的R1645和/或R1648位置的任何取代。

[0083] 在一些实施例中,任何上述FVIII-BDD蛋白可进一步包含一种或多种以下变体:F309S取代,以改善FVIII-BDD蛋白的表达(Miao,H.Z.,等人.,Blood[血液]103(a):3412-3419(2004);白蛋白融合物(WO 2011/020866);和Fc融合物(WO 04/101740)。

[0084] 除非另有说明,否则本文提及的所有FVIII-BDD氨基酸位置均指全长人FVIII中的位置。

[0085] 如本文所用,“因子IX蛋白”或“FIX蛋白”是指包含天然存在的因子IX蛋白或其变体的氨基酸序列的多肽,其具有如本领域认可的测定所确定的FIX生物活性,例如凝血活性,除非另有说明。FIX作为无活性酶原产生,该酶原通过因子XIa切除活化肽产生通过一个或多个二硫键保持在一起的重链和轻链而转化为活性形式。可以由本文描述的颗粒产生的FIX蛋白(例如,由包含在颗粒中的工程化的RPE细胞表达)包括野生型灵长类动物(例如人)、猪、犬和鼠蛋白,以及这种野生型蛋白的变体,包括片段,突变体,具有一个或多个氨基酸取代和/或缺失的变体,以及任何前述野生型或变体蛋白质与延长半衰期的多肽的融合体。在实施例中,将细胞工程化以编码全长野生型人因子IX多肽(例如,具有信号序列)或其功能变体。变体FIX蛋白优选具有野生型因子VIX的凝血活性的至少50%、75%、90%或更多(包括>100%)。用于测量FIX蛋白的凝结活性的测定包括Biophen因子IX测定(Hyphen BioMed)和一阶段凝血测定(活化部分促凝血酶原激酶时间(aPTT)(例如,如EP 2 032 607 B2中所述),凝血酶产生时间测定(TGA)和旋转血栓弹力测定法(例如,如WO 2012/006624中所述)。

[0086] 许多功能性FIX变体是已知的并且可以由包封在本文所述的颗粒中的工程化的细胞表达,包括以下国际专利公开中描述的任何功能性FIX变体:WO 02/040544 A3,第4页第9-30行和第15页第6-31行;WO 03/020764 A2,表2和3中,第14-24页和第12页第1-27行;WO 2007/149406 A2,第4页第1行至第19页第11行;WO 2007/149406 A2,第19页第12行至第20页第9行;WO 08/118507 A2,第5页第14行至第6页第5行;WO 09/051717A2,第9页第11行至

第20页第2行;WO 09/137254 A2,第2页第[006]段至第5页第[011]段和第16页第[044]段至第24页第[057]段;WO 09/130198A2,第4页第26行至第12页第6行;WO 09/140015 A2,第11页第[0043]段至第13页第[0053]段;WO 2012/006624;WO 2015/086406。

[0087] 在某些实施例中,FIX多肽包含与延长FIX蛋白的半衰期的异源多肽或非多肽部分融合的野生型或变体序列。示例性的延长半衰期的部分包括Fc、白蛋白、PAS序列、转铁蛋白、CTP(人绒毛膜促性腺激素(hCG)的28氨基酸C-末端肽(CTP)及其4O-聚糖)、聚乙二醇(PEG)、羟乙基淀粉(HES)、白蛋白结合多肽、结合白蛋白的小分子、或其任何组合。示例性FIX多肽是WO 2012/006624中描述的rFIXFc蛋白,其是通过Fc铰链区中的两个二硫键结合在一起的FIXFc单链(FIXF c-sc)和Fc单链(Fc-sc)。

[0088] FIX变体还包括功能获得性和功能缺失性变体。功能获得性变体的实例是人FIX的"Padua"变体,其在成熟蛋白质的338位具有L(亮氨酸)而不是R(精氨酸)(对应于SEQ ID NO:2的氨基酸位置384),并且与野生型人FIX相比具有更高的催化和凝结活性(Chang等人.,J.Biol.Chem.[生物化学杂志],273:12089-94(1998))。功能缺失性变体的实例是在成熟蛋白质的起始的第五个氨基酸位置上丙氨酸取代赖氨酸,其导致与胶原蛋白IV的结合降低(例如功能缺失)的蛋白。

[0089] 本文所用的"白细胞介素-2蛋白"或"IL-2蛋白"是指包含天然存在的IL-2蛋白或其具有通过本领域公认的测定确定的IL-2生物活性(例如,激活Treg细胞中的IL-2受体信号传导)的变体的氨基酸序列的多肽,除非另有说明。可以通过本文描述的颗粒(例如含有工程化的RPE细胞的颗粒)产生的IL-2蛋白包括野生型灵长类动物(例如人)、猪、犬和鼠蛋白,以及这种野生型蛋白的变体。变体IL-2蛋白优选具有相应野生型IL-2的至少50%、75%、90%或更多(包括>100%)的生物活性。IL-2蛋白的生物活性测定描述于美国专利号10,035,836中,并且包括例如测量与CD4+CD25-/低T细胞或NK细胞相比Treg细胞中磷酸化的STAT5蛋白的水平。可以通过本披露的颗粒(例如,含有工程化的RPE细胞的颗粒)产生的变体IL-2蛋白包含具有一个或多个以下氨基酸取代的蛋白:N88R、N88I、N88G、D20H、Q126L、Q126F和C125S或C125A。

[0090] 本文所用的"胰岛细胞"是指包含任何天然存在的或任何合成产生的或修饰的细胞的细胞,所述细胞旨在部分或全部地重现、模拟或以其他方式表达朗格汉斯胰岛的细胞的部分或全部功能。术语"胰岛细胞"包括葡萄糖响应性胰岛素生成细胞,其衍生自干细胞,例如来自诱导的多能干细胞系。

[0091] 除非另有明确说明,否则本文所用的"甘露醇"是指D-甘露醇。

[0092] 如本文所用的术语"间充质干细胞功能细胞"或"MSFC"是指衍生自中胚层谱系细胞或具有中胚层谱系细胞的至少一种特异性特征的细胞,并且其中MSFC是i)不在终末分化状态和ii)可以终末分化成一种或多种细胞类型。MSFC不包含内胚层来源的细胞例如肠细胞,或外胚层来源的细胞例如源自皮肤、CNS或神经细胞的细胞。在实施例中,MSFC是多能的。在实施例中,MSFC不是全能的。在实施例中,MSFC包括以下特征中的一个或多个:

[0093] a)它包括间充质干细胞(MSC)或由其衍生的细胞,包括衍生自MSC的原代细胞培养物的细胞,直接(没有长期培养,自分离后例如少于5或10次传代或细胞分裂轮次)从天然存在的MSC(例如从人或其他哺乳动物)分离的细胞,衍生自转化的、多能的、永生化的或长期的(例如,超过5或10次传代或细胞分裂轮次)MSC培养物的细胞。在实施例中,MSFC衍生自人

源,例如血液(例如外周血)、骨髓(例如,髂嵴、股骨、胫骨、脊柱、肋骨或膝盖)、滑膜组织、脂肪组织、皮肤、胎儿组织、脐带或胎盘;

[0094] b)它包含从较低分化细胞获得的细胞,例如,发育、编程或重编程(例如,体外)为MSC的细胞或基本上类似于(除了任何基因工程之外)一种或多种天然存在的MSC的细胞或来自MSC的原代或长期培养物的细胞、或上述a)中描述的细胞。可以衍生MSFC的分化程度较低的细胞的实例包括IPS细胞、胚胎干细胞或其他全能或多能细胞;参见例如Chen,Y.S.等人(2012)Stem Cells Transl Med[干细胞转化医学]1(83-95);Frobel,J等人(2014)Stem Cell Reports[干细胞报道]3(3):414-422;Zou,L等人(2013)SciRep[科学报道]3:2243;

[0095] c)它是多能的,例如,通过能够提供关于细胞多能性的信息的任何测定法测量,例如显微镜检查;

[0096] d)它呈现出特征性的单核卵球形、星状或纺锤形,具有圆形到椭圆形的核。椭圆形细长核可具有突出的核仁和异染色质与常染色质的混合物。MSFC(例如,MSC)可能具有很少的细胞质,但许多细长突起似乎从细胞核延伸;

[0097] e)它能够进行细胞分裂,例如,如能够提供关于细胞分裂的信息的任何测定例如显微镜检查所测量的。在实施例中,MSFC能够在培养中进行细胞分裂(例如,在被包封或掺入本文所述的颗粒之前)。在实施例中,MSFC在被包封(例如,如本文所述进行包封)或掺入颗粒(例如,本文所述的2室胶囊)中后能够进行细胞分裂。在实施例中,它在达到汇合后不能进行细胞分裂;

[0098] f)它能够分化成间充质细胞谱系,例如成骨细胞、成核细胞、脂肪细胞或成纤维细胞;

[0099] g)它表达间充质细胞标志物,例如,CD105、CD106、CD73、CD90、Stro-1、CD49a、CD29、CD44、CD146、CD166、TNAP+、THY-1+、Stro-2、Stro-4和碱性磷酸酶中的一种、两种、三种、四种、五种或全部;

[0100] h)它不表达显著水平的CD34、CD31、VE-钙粘蛋白、CD45、HLA-DR、CD11b和血型糖蛋白或白细胞分化抗原例如、CD14、CD33、CD3和CD19中的一种、二种、三种、或任何一种;

[0101] i)它表达CD75、CD90和CD105中的一种、两种或全部,并且不表达CD45、CD34和CD14中的一种、两种或任何一种;

[0102] j)它是抗炎或免疫抑制剂,例如,通过能够提供关于炎症的信息的任何方法测量的,例如,体内抑制T细胞增殖;

[0103] k)它能够粘附,例如塑料粘附,例如通过例如目视检查确定的;或

[0104] l)可以三维生长,例如通过例如目视检查确定的。

[0105] 本文所用的“甲状旁腺激素”或“PTH”是指天然存在的甲状旁腺激素多肽或肽或通过本领域公认的测定法测定的具有PTH生物活性的其变体的氨基酸序列。可由本文所述的包封的细胞表达的PTH多肽和肽包括野生型灵长类动物(例如人)、猪、犬和鼠蛋白,以及此类野生型蛋白的变体。此类PTH多肽和肽可以基本上由pre-pro-PTH多肽(115个氨基酸)、pro-PTH多肽(90个氨基酸)、成熟的84-氨基酸肽(PTH(1-84))及其生物活性变体(例如截短的变体肽PTH(1-34))的野生型人序列组成。在人野生型序列中具有/一个或多个氨基酸取代的PTH肽变体已经描述于例如美国专利号7410948和8563513以及美国公开专利申请US 20130217630中。PTH变体优选具有相应野生型PTH的至少50%、75%、90%或更多(包括>

100％)的生物活性。在美国专利8383417中描述了通过串联质谱法检测某些PTH变体的测定法。美国专利7410948中描述了PTH肽变体的生物活性测定-通过测量cAMP水平测定的腺苷酸环化酶的刺激。

[0106] 如本文所用,“泊洛沙姆”是指一类非离子三嵌段线性共聚物(其由侧面为两个聚氧乙烯(聚(环氧乙烷))部分的聚氧丙烯(聚(环氧丙烷))的中心疏水链组成)的标准通用术语。

[0107] 如本文所用,“泊洛沙姆188”或“P 188”是指泊洛沙姆,其聚氧丙烯核的分子量约为1800g/摩尔,氧乙烯含量约为80重量％,例如79.0％-83.7％。在实施例中,泊洛沙姆188的平均分子量为8350g/摩尔。在实施例中,泊洛沙姆188的平均分子量为例如通过尺寸排阻色谱法测定的7680g/摩尔至9510g/摩尔,并且氧乙烯含量为81.8±1.9重量％。在实施例中,泊洛沙姆188中的每个聚氧乙烯链具有75-85(例如80)个环氧乙烷单体,并且聚氧丙烯核具有25-30(例如27个)环氧丙烷单体。在一个实施例中,本文所述方法中使用的泊洛沙姆188基本上满足由美国药典-国家处方集(USP-NF)或欧洲药典(Ph.Eur.)公布的泊洛沙姆专论中所述的在进行该过程时正式的规范。

[0108] 如本文所用,“泊洛沙姆407”或“P 407”是指泊洛沙姆,其聚丙烯核的分子量约为4000g/摩尔,氧化乙烯含量约为70重量％。在实施例中,泊洛沙姆407的平均分子量为9,840g/摩尔至14,600g/摩尔,并且氧乙烯含量为73.2±1.7重量％。在实施例中,泊洛沙姆407中的每个聚氧乙烯链具有95-105(例如101)个环氧乙烷单体,并且聚氧丙烯核具有54-60(例如56个)环氧丙烷单体。

[0109] 如本文所用,“多肽”是指包含通过肽键连接的氨基酸残基并具有至少两个并且在实施例中至少10、50、75、100、150或200个氨基酸残基的聚合物。

[0110] 如本文所用,“预防(Prevention、prevent、preventing)”是指包括施用或施用疗法(在疾病、障碍或病症发作之前施用包封细胞的颗粒组合物(例如,如本文所述)以排除所述疾病、障碍或病症的身体表现)的治疗。在一些实施例中,“预防”需要疾病、障碍或病症的体征或症状尚未发展或尚未观察到。在一些实施例中,治疗包括预防,而在其他实施方案中,治疗不包括预防。

[0111] “替代疗法”或“替代蛋白”是治疗性蛋白或其功能片段,其在患有与蛋白的减少、改变或缺乏的疾病或病症的受试者中替代或增加减少的、以不足的量存在的、改变的(例如突变的)或缺乏的蛋白。实例是某些凝血障碍中的某些凝血因子或某些溶酶体贮积病中的某些溶酶体酶。在实施例中,替代疗法或替代蛋白提供内源蛋白的功能。在实施例中,替代疗法或替代蛋白具有与被替换蛋白质的天然存在的变体(例如野生型等位基因或与病症无关的等位基因)相同的氨基酸序列。在实施例中,替代疗法或替代蛋白的氨基酸序列与天然存在的变体(例如野生型等位基因或与病症无关的等位基因,例如受试者携带的等位基因)具有不超过约1％、2％、3％、4％、5％、10％、15％或20％的氨基酸残基不同。

[0112] 如本文所用的“RPE细胞”是指具有一种或多种以下特征的细胞:a)它包含视网膜色素上皮细胞(RPE)(例如,使用ARPE-19细胞系(ATCC® CRL-2302™)培养)或由其衍生的细胞,包括衍生自RPE细胞的原代细胞培养物的细胞,直接(没有长期培养,自分离后例如少于5或10次传代或细胞分裂轮次)从天然存在的RPE(例如从人或其他哺乳动物)分离的细胞,衍生自转化的、永生化的或长期的(例如,超过5或10次传代或细胞分裂轮次)RPE培养物

的细胞;b)从较低分化细胞获得的细胞,例如,发育、编程或重编程(例如,体外)为RPE细胞的细胞或基本上类似于(除了任何基因工程之外)一种或多种天然存在的RPE细胞的细胞或来自RPE细胞的原代或长期培养物的细胞(例如,细胞可以源自IPS细胞);或c)具有以下一个或多个选自的细胞:i)它表达生物标志物CRALBP、RPE-65、RLBP、BEST1或αB-晶状体蛋白中的一种或多种;ii)它不表达生物标志物CRALBP、RPE-65、RLBP、BEST1或αB-晶状体蛋白中的一种或多种;iii)它自然地存在于视网膜中并在布鲁赫膜中的脉络膜血管上方形成单层;iv)它负责视网膜中的上皮转运、光吸收、分泌和免疫调节;或v)它是合成产生、或由天然存在的细胞修饰而产生,具有与永生化的RPE细胞系(例如ARPE-19细胞系(ATCC® CRL-2302™))相同或基本相同的遗传内容,以及任选地具有相同或基本相同的表观遗传内容。在实施例中,将本文描述的RPE细胞工程化,例如以具有新性质,例如,将细胞工程化以表达治疗性蛋白。在其他实施例中,RPE细胞未经工程改造。

[0113] "序列同一性"或"相同百分比",当在本文中用于指代两个核苷酸序列或两个氨基酸序列时,意指当比较两个序列并对齐以在比较窗口或特定区域上进行最大对应时,两个序列在特定区域内相同,或在特定区域内在特定百分比的核苷酸或氨基酸位置具有相同核苷酸或氨基酸。序列同一性可以使用本领域已知的标准技术确定,包括但不限于美国专利公开号2017/02334455描述的任何算法。在实施例中,相同核苷酸或氨基酸位置的特定百分比为至少约80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高。

[0114] 如本文所用,"球形"是指具有形成球形(例如,完全圆形球)或球形形状的弯曲表面的颗粒。球体和球状物体可以通过围绕三个垂直轴a、b和c中的每一个的圆形、椭圆形或组合的旋转来数学地定义。对于球体,三个轴a、b和c的长度相同。通常,球状形状是具有彼此在10%、或5%或2.5%之内的半主轴a、b和c的椭圆体(对于其平均表面)。球形或球状形状的直径是平均直径,例如半主轴的平均值。

[0115] 如本文所用的"受试者"是指人或非人动物。在实施例中,受试者是人(即,男性或女性,例如,任何年龄组,儿科受试者(例如,婴儿、儿童、青少年)或成年受试者(例如,年轻成人、中年成人、或老年成人))。在实施例中,受试者是非人动物,例如哺乳动物(例如灵长类动物(例如食蟹猴或恒河猴))。在实施例中,受试者是商业上相关的哺乳动物(例如,牛、猪、马、绵羊、山羊、猫或狗)或禽(例如,商业相关的禽,例如鸡、鸭、鹅或火鸡)。在某些实施例中,该动物是哺乳动物。该动物可以是雄性的或雌性的并且处于任何发育阶段。非人的动物可以是转基因动物。

[0116] 如本文所用,"总体积"是指颗粒的一个室内的体积,其包括另一个室占据的空间。例如,两室颗粒的第二(例如,外)室的总体积是指第二室内的体积,其包括第一室占据的空间。

[0117] 本文所用的"治疗(treatment、treat和treating)"是指减轻、逆转、缓解、延迟疾病、障碍或病症的一种或多种症状、表现或潜在病因的发作或抑制其进展中的一种或多种。在实施例中,治疗包括减轻、逆转、缓解、延迟疾病、障碍或病症的症状的发作或抑制其进展。在实施例中,治疗包括减轻、逆转、缓解、延迟疾病、障碍或病症的表现的发作或抑制其进展。在实施例中,治疗包括减轻、逆转、缓解、减轻或延迟疾病、障碍或病症的潜在原因的发作。在一些实施例中,"治疗"需要已经发展或已经观察到疾病、障碍或病症的体征或症状。在其他实施例中,在没有疾病或病症的体征或症状时施用治疗,例如在预防性治疗中。

例如,先于症状的发作(例如,考虑症状历史和/或根据遗传的或其他易感因素)施用治疗至易感个体。症状已经解决后也可以继续治疗,例如,以延迟或防止复发。在一些实施例中,治疗包括预防,而在其他实施方案中,治疗不包括预防。

[0118] 如本文所用,“冯氏因子蛋白(Von Willebrand factor protein)”或“VWF蛋白”是指包含天然存在的VWF蛋白或其变体(其具有如本领域认可的测定所确定的VWF生物活性,例如FVIII结合活性,除非另有说明)的氨基酸序列的多肽。可以通过本文描述的颗粒(例如由颗粒中含有的工程化的细胞表达)产生的VWF蛋白包括野生型灵长类动物(例如人)、猪、犬和鼠蛋白,以及这种野生型蛋白的变体。可以将包封的细胞工程化以编码以下任何VWF多肽:2813个氨基酸的前体VWF,缺少22个氨基酸的信号肽和任选地741个氨基酸的前肽的VWF,2050个氨基酸的成熟VWF蛋白及其截短的变体,例如足以稳定VWF缺陷型小鼠中的内源FVIII水平的VWF片段,例如含有D′D3区(氨基酸764-1247)或D1D2D′D3区的截短变体;以及例如在美国专利号9458223中描述的D′区具有一个或多个氨基酸取代的VWF变体。变体VWF蛋白优选具有相应野生型VWF蛋白的至少50%、75%、90%或更多(包括>100%)的生物活性。用于确定VWF的生物活性的本领域公认的测定法包括瑞斯托菌素辅因子活性(Federici A B等人.2004.Haematologica[血液病学]89:77-85),VWF与血小板糖蛋白复合物Ib-V-IX的GP Ibα的结合(Sucker等人.2006.Clin Appl Thromb Hemost[血栓形成/止血临床和应用].12:305-310),和胶原蛋白结合(Kallas&Talpsep.2001.Annals of Hematology[血液学年鉴]80:466-471)。

[0119] 在一些实施例中,由本披露的颗粒产生的VWF蛋白包含与延长VWF蛋白半衰期的异源多肽或非多肽部分融合的天然存在的或变体的VWF氨基酸序列。示例性的延长半衰期的部分包括Fc、白蛋白、PAS序列、转铁蛋白、CTP(人绒毛膜促性腺激素(hCG)的28氨基酸C-末端肽(CTP)及其4O-聚糖)、聚乙二醇(PEG)、羟乙基淀粉(HES)、白蛋白结合多肽、结合白蛋白的小分子、或其任何组合。

[0120] 选定的化学定义

[0121] 下文更详细地描述特定官能团和化学术语的定义。化学元素依据化学元素周期表(the Periodic Table of the Elements)来定义,CAS版,化学和物理手册,第75版,封二,并且特定官能团总体上如其中所述来定义。另外,有机化学的一般原理以及特定的官能部分和反应性描述于Thomas Sorrell,Organic Chemistry[有机化学],大学科学课本(University Science Books),索萨利托(Sausalito),1999;Smith和March,March's Advanced Organic Chemistry[March高级有机化学],第5版,约翰威利父子公司(John Wiley&Sons,Inc.),纽约,2001;Larock,Comprehensive Organic Transformations[综合有机转化],VCH出版社(VCH Publishers,Inc.),纽约,1989;和Carruthers,Some Modern Methods of Organic Synthesis[一些现代有机合成方法],第3版,剑桥大学出版社(Cambridge University Press),剑桥,1987。

[0122] 本文使用的缩写在化学和生物学领域中具有其常规含义。本文所述的化学结构和化学式根据化学领域中已知的化学价的标准规则构建。

[0123] 当列举数值范围时,意图涵盖该范围内的每个数值和子范围。例如,“C_1-C_6烷基”旨在涵盖C_1、C_2、C_3、C_4、C_5、C_6、C_1-C_6、C_1-C_5、C_1-C_4、C_1-C_3、C_1-C_2、C_2-C_6、C_2-C_5、C_2-C_4、C_2-C_3、C_3-C_6、C_3-C_5、C_3-C_4、C_4-C_6、C_4-C_5和C_5-C_6烷基。

[0124] 如本文使用的“烷基”是指具有1至24个碳原子(“C_1-C_{24}烷基”)的直链或支链的饱和烃基团。在一些实施例中,烷基基团具有1至12个碳原子(“C_1-C_{12}烷基”)、1至10个碳原子(“C_1-C_{12}烷基”)、1至8个碳原子(“C_1-C_8烷基”)、1至6个碳原子(“C_1-C_6烷基”)、1至5个碳原子(“C_1-C_5烷基”)、1至4个碳原子(“C_1-C_4烷基”)、1至3个碳原子(“C_1-C_3烷基”)、1至2个碳原子(“C_1-C_2烷基”)或1个碳原子(“C_1烷基”)。在一些实施例中,烷基基团具有2至6个碳原子(“C_{2-6}烷基”)。C_{1-6}烷基基团的实例包括甲基(C_1)、乙基(C_2)、正丙基(C_3)、异丙基(C_3)、正丁基(C_4)、叔丁基(C_4)、仲丁基(C_4)、异丁基(C_4)、正戊基(C_5)、3-戊基(C_5)、戊基(C_5)、新戊基(C_5)、3-甲基-2-丁基(C_5)、叔戊基(C_5)以及正己基(C_6)。烷基基团的另外的实例包括正庚基(C_7)、正辛基(C_8)等等。每个烷基基团的每个实例可以是独立地任选经取代地,即,未被取代的(“未被取代的烷基”)或被一个或两个取代基取代的(“被取代的烷基”);例如,例如1至5个取代基、1至3个取代基或1个取代基。

[0125] 如本文使用的“烯基”是指具有2至24个碳原子、一个或多个碳碳双键并且没有碳碳三键的直链或支链的烃基团(“C_2-C_{24}烯基”)。在一些实施例中,烯基基团具有2至12个碳原子(“C_2-C_{12}烯基”),2至10个碳原子(“C_2-C_{10}烯基”)、2至8个碳原子(“C_2-C_8烯基”)、2至6个碳原子(“C_2-C_6烯基”)、2至5个碳原子(“C_2-C_5烯基”)、2至4个碳原子(“C_2-C_4烯基”)、2至3个碳原子(“C_2-C_3烯基”)或2个碳原子(“C_2烯基”)。该一个或多个碳碳双键可以是内部的(例如在2-丁烯基中)或末端的(例如在1-丁烯基中)。C_{2-4}烯基基团的实例包括乙烯基(C_2)、1-丙烯基(C_3)、2-丙烯基(C_3)、1-丁烯基(C_4)、2-丁烯基(C_4)、丁二烯(C_4)等等。C_2-C_6烯基基团的实例包括上述C_{2-4}烯基基团连同戊烯基(C_5)、戊二烯基(C_5)、己烯基(C_6)等等。烯基基团的每个实例可以独立地任选地被取代,即,未被取代的(“未被取代的烯基”)或被一个或多个取代基例如1至5个取代基、1至3个取代基或1个取代基取代的(“被取代的烯基”)。

[0126] 如本文使用的术语“炔基”是指具有2至24个碳原子、一个或多个碳碳三键的直链或支链的烃基团(“C_2-C_{24}烯基”)。在一些实施例中,炔基基团具有2至12个碳原子(“C_2-C_{10}炔基”),2至10个碳原子(“C_2-C_{10}炔基”)、2至8个碳原子(“C_2-C_8炔基”)、2至6个碳原子(“C_2-C_6炔基”)、2至5个碳原子(“C_2-C_5炔基”)、2至4个碳原子(“C_2-C_4炔基”)、2至3个碳原子(“C_2-C_3炔基”)或2个碳原子(“C_2炔基”)。该一个或多个碳碳三键可以是内部的(例如在2-丁炔基中)或末端的(例如在1-丁炔基中)。C_{2-4}炔基基团的实例包括乙炔基(C_2)、1-丙炔基(C_3)、2-丙炔基(C_3)、1-丁炔基(C_4)、2-丁炔基(C_4)等。炔基基团的每个实例可以独立地任选地被取代,即,未被取代的(“未被取代的炔基”)或被一个或多个取代基例如1至5个取代基、1至3个取代基或1个取代基取代的(“被取代的炔基”)。

[0127] 如本文所用,术语“杂烷基”是指非环状稳定的直链或支链或其组合(包括至少一个碳原子和至少一个选自由O,N,P,Si和S组成的组的杂原子,其中氮和硫原子可任选地被氧化,并且氮杂原子可任选地被季铵化)。一种或多种杂原子O、N、P、S和Si可以放置在杂烷基基团的任意位置处。示例性的杂烷基包括但不限于:$-CH_2-CH_2-O-CH_3$、$-CH_2-CH_2-NH-CH_3$、$-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$、$-CH_2-S-CH_2-CH_3$、$-CH_2-CH_2$、$-S(O)-CH_3$、$-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$、$-CH=CH-O-CH_3$、$-Si(CH_3)_3$、$-CH_2-CH=N-OCH_3$、$-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$、$-O-CH_3$和$-O-CH_2-CH_3$。多达两个或三个杂原子可以是连续的,例如像$-CH_2-NH-OCH_3$和$-CH_2-O-Si(CH_3)_3$。当列举“杂烷基”然后列举特定的杂烷基例如$-CH_2O$、$-NR^CR^D$等时,应理解术语杂烷基和$-CH_2O$或$-NR^CR^D$不是冗余或相互排斥的。而是,列举特定的杂烷基以增加清晰度。因此,术语杂烷基在本文中不应解释为排

除特定的杂烷基，例如-CH_2O，-NR^CR^D等。杂烷基的每个实例可以是独立地任选经取代的，未经取代的（“未经取代的杂烷基”）或被一个或多个取代基（例如，诸如从1至5个取代基、1至3个取代基或1个取代基）取代的（“经取代的杂烷基”）。

[0128] 除非另有说明，术语“亚烷基”、“亚烯基”、“亚炔基”或“亚杂烷基”单独或作为另一取代基的一部分分别表示衍生自烷基、烯基、炔基或杂烷基的二价基团。亚烷基、亚烯基、亚炔基或亚杂烷基可描述为例如C_1-C_6元亚烷基、C_2-C_6元亚烯基、C_2-C_6元亚炔基、或C_1-C_6元杂亚烷基，其中术语“元”是指该部分内的非氢原子。在杂亚烷基基团的情况下，杂原子也可占据链末端中的任一个或两个（例如亚烷氧基，亚烷二氧基，亚烷基氨基，亚烷基二氨基等）。此外，对于亚烷基和杂亚烷基连接基团，所写的连接基团的式的方向没有暗示连接基团的取向。例如，式-C(O)$_2$R'-可以代表-C(O)$_2$R'-和-R'C(O)$_2$-。

[0129] 如在本文使用的“芳基”是指具有6-14个环原子以及提供在芳香族环系统中的零个杂原子单环的或多环的（例如，二环的或三环的）4n+2芳香族环系统（例如，在环阵列中具有6、10、或14个π电子）的基团（“C_{6-14}芳基”）。在一些实施例中，芳基基团具有6个环原子（“C_6芳基”；例如，苯基）。在一些实施例中，芳基基团具有10个环碳原子（“C_{10}芳基”；例如，萘基，如1-萘基和2-萘基）。在一些实施例中，芳基基团具有14个环碳原子（“C_{14}芳基”；例如，蒽基）。芳基可以描述为例如C_6-C_{10}元芳基，其中术语“元”是指该部分内的非氢环原子。芳基包括苯基、萘基、茚基和四氢萘基。每个芳基基团的每个实例可以是独立地任选经取代地，即，未被取代的（“未被取代的芳基”）或被一个或两个取代基取代的（“被取代的芳基”）。

[0130] 如在本文使用的“杂芳基”是指具有环碳原子以及提供在该芳香族环系统中的1-4个环杂原子（其中每个杂原子独立地选自氮、氧以及硫）的5-10元单环的或二环的4n+2芳香族环系统（例如，在环阵列中具有6或10个π电子）的基团（“5-10元杂芳基”）。在包含一个或多个氮原子的杂芳基基团中，连接点可以是碳或氮原子，只要化合价允许。杂芳基二环环系统可以在一个或两个环中包括一个或多个杂原子。“杂芳基”也包括环系统，其中该杂芳基环，如以上定义的，是与一个或多个芳基基团融合的（其中连接处或者在芳基上或者在杂芳基环上），并且在此类情况下，环成员的数目继续称作在该融合（芳基/杂芳基）环系统中的环成员的数目。在其中一个环不包括杂原子的二环杂芳基基团（例如，吲哚基、喹啉基、咔唑基等）中连接点可以是在其中一环上，即，或者该环承载杂原子（例如，2-吲哚基）或该环不包含杂原子（例如，5-吲哚基）。杂芳基基团可以描述为例如6-10元杂芳基，其中术语“元”是指该部分内的非氢环原子。

[0131] 在一些实施例中，杂芳基基团是具有环碳原子以及提供在该芳香族环系统中的1-4个环杂原子（其中每个杂原子独立地选自氮、氧以及硫）的5-10元芳香族环系统（“5-10元杂芳基”）。在一些实施例中，一个杂芳基基团是具有环碳原子以及提供在该芳香族环系统中的1-4个环杂原子（其中每个杂原子独立地选自氮、氧以及硫）的5-8元芳香族环系统（“5-8元杂芳基”）。在一些实施例中，一个杂芳基基团是具有环碳原子以及提供在该芳香族环系统中的1-4个环杂原子（其中每个杂原子独立地选自氮、氧以及硫）的5-6元芳香族环系统（“5-6元杂芳基”）。在一些实施例中，该5-6元杂芳基具有1-3个选自氮、氧以及硫的环杂原子。在一些实施例中，该5-6元杂芳基具有1-2个选自氮、氧以及硫的环杂原子。在一些实施例中，该5-6元杂芳基具有1个选自氮、氧以及硫的环杂原子。每个杂芳基基团的每个实例可以是独立地任选经取代地，即，未被取代的（“未被取代的杂芳基”）或被一个或两个取代基

取代的(“被取代的杂芳基”)。

[0132] 含有1个杂原子的示例性5元杂芳基基团包括,但不限于吡咯基、呋喃基和苯硫基。包含两个杂原子的示例性5-元杂芳基基团包括但不限于,咪唑基、吡唑基、噁唑啉基、异噁唑啉基、噻唑基以及异噻唑基。包含三个杂原子的示例性5-元杂芳基基团包括但不限于,噻唑基、噁二唑基以及噻二唑基。包含四个杂原子的示例性5-元杂芳基基团包括但不限于,四唑基。包含一个杂原子的示例性6-元杂芳基基团包括但不限于,吡啶基。包含两个杂原子的示例性6-元杂芳基基团包括但不限于,哒嗪基、嘧啶基以及吡嗪基。包含三或四个杂原子的示例性6-元杂芳基基团包括但不限于,独自地三嗪基以及四嗪基。包含一个杂原子的示例性7-元杂芳基基团包括但不限于,氮杂卓基、氧杂卓基以及硫杂卓基。示例性5,6-二环杂芳基基团包括但不限于,吲哚基、异吲哚基、吲唑基、苯并三唑基、苯并苯硫基、异苯并苯硫基、苯并呋喃基、苯并异呋喃基、苯并咪唑基、苯并噁唑基、苯并异噁唑基、苯并噁二唑基、苯并噻唑基、苯并异噻唑基、苯并噻二唑基、吲嗪基以及嘌呤基。示例性6,6-二环杂芳基基团包括但不限于,萘啶基、蝶啶基、喹啉基、异喹啉基、噌啉基、喹喔啉基、酞嗪基以及喹唑啉基。其他示例性杂芳基基团包括血红素和血红素衍生物。

[0133] 如本文所用,术语“亚芳基”和“亚杂芳基”(单独或作为另一取代基的一部分)分别表示衍生自芳基和杂芳基的二价基团。

[0134] 如本文使用的“环烷基”是指具有从3到10个环碳原子的非芳香族环状烃基(“C_{3}-C_{10}环烷基”)并且在该非芳香族环系统中不具有杂原子。在一些实施例中,环烷基基团具有3至8个环碳原子(“C_{3}-C_{8}环烷基”)、3至6个环碳原子(“C_{3}-C_{6}环烷基”)或5至10个环碳原子(“C_{5}-C_{10}环烷基”)。环烷基可以描述为例如C_{4}-C_{7}元环烷基,其中术语“元”是指该部分内的非氢环原子。示例性C_{3-6}环烷基基团包括,但不限于环丙基(C_{3})、环丙烯基(C_{3})、环丁基(C_{4})、环丁烯基(C_{4})、环戊基(C_{5})、环戊烯基(C_{5})、环己基(C_{6})、环己烯基(C_{6})、环己二烯基(C_{6})等。示例性的C_{3}-C_{8}环烷基基团包括但不限于上述C_{3}-C_{6}环烷基以及环庚基(C_{7})、环庚烯基(C_{7})、环庚二烯基(C_{7})、环庚三烯基(C_{7})、环辛基(C_{8})、环辛烯基(C_{8})、立方烷基(C_{8})、二环[1.1.1]戊烷基(C_{5})、二环[2.2.2]辛基(C_{8})、双环[2.1.1]己基(C_{6})、二环[3.1.1]庚基(C_{7})、等等。示例性C_{3-10}环烷基基团包括,但不限于前面提到的C_{3-8}环烷基基团以及环壬基(C_{9})、环壬烯基(C_{9})、环癸基(C_{10})、环癸烯基(C_{10})、八氢-1H-茚基(C_{9})、十氢萘基(C_{10})、螺[4.5]癸烷基(C_{10})等。如前述实例所阐明的,在某些实施例中,该环烷基基团或者是单环的(“单环的环烷基”)或者包含融合的、桥联的或螺的环系统(例如二环系统(“二环的环烷基”))并且可以是饱和的或可以是部分不饱和的。“环烷基”还包括其中如上所定义的该环烷基环被一个或多个芳基基团稠合的环系统,其中附接点是在该环烷基环上,并且在此类情况下,碳的数目继续指示该环烷基环系统中的碳的数目。每个环烷基基团的每个实例可以是独立地任选经取代地,即,未被取代的(“未被取代的环烷基”)或被一个或两个取代基取代的(“被取代的环烷基”)。

[0135] 在此使用“杂环基”是指具有环碳原子以及1至4个环杂原子(其中每个杂原子独立地选自氮、氧、硫、硼、磷以及硅)的3-至10-元非芳香族环系统的基团(“3-10元杂环基”)。在包含一个或多个氮原子的杂环基基团中,连接点可以是碳或氮原子,只要化合价许可。杂环基基团或者可以是单环的(“单环的杂环基”)或者是融合的、桥联的或螺的环系统(例如二环系统(“二环的杂环基”))并且可以是饱和的或可以是部分不饱和的。杂环基二环的环系

统可以在一个或两个环中包括一个或多个杂原子。“杂环基”还包括其中如上所定义的该杂环基环被一个或多个杂环基基团稠合的环系统，其中附接点是在该杂环基或杂环基环或者其中如上所定义的该杂环基环被一个或多个芳基或杂芳基基团稠合的环系统上，其中附接点是在该杂环基环上，并且在此类情况下，环成员的数目继续指示该杂环基环系统中的环成员的数目。杂环基可以描述为例如3-7元杂环基，其中术语“元”是指在该部分内的非氢环原子，即碳、氮、氧、硫、硼、磷和硅。每个杂环基基团的每个实例可以是独立地任选经取代地，即，未被取代的(“未被取代的杂环基”)或被一个或两个取代基取代的(“被取代的杂环基”)。在某些实施例中，该杂环基基团是未取代的3-10元杂环基。在某些实施例中，该杂环基基团是取代的3-10元杂环基。

[0136] 在一些实施例中，杂环基基团是具有环碳原子以及1-4个环杂原子(其中每个杂原子独立地选自氮、氧、硫、硼、磷以及硅)的5-10元非芳香族环系统(“5-10元杂环基”)。在一些实施例中，杂环基基团是具有环碳原子以及1-4个环杂原子(其中每个杂原子独立地选自氮，氧，以及硫)的5-8元非芳香族环系统(“5-8元杂环基”)。在一些实施例中，杂环基基团是具有环碳原子以及1-4个环杂原子(其中每个杂原子独立地选自氮，氧，以及硫)的5-6元非芳香族环系统(“5-6元杂环基”)。在一些实施例中，该5-6元杂环基具有1-3个选自氮、氧以及硫的环杂原子。在一些实施例中，该5-6元杂环基具有1-2个选自氮、氧以及硫的环杂原子。在一些实施例中，该5-6元杂环基具有一个选自氮、氧以及硫的环杂原子。

[0137] 含有1个杂原子的示例性3元杂环基基团包括，但不限于氮丙啶基、环氧乙烷基(oxiranyl)、环硫乙烷基(thiorenyl)。包含一个杂原子的示例性4-元杂环基基团包括但不限于，氮杂环丙基、环氧乙烷基以及硫杂环丙烷基。含有1个杂原子的示例性5元杂环基基团包括，但不限于四氢呋喃基、二氢呋喃基、四氢苯硫基、二氢苯硫基、吡咯烷基、二氢吡咯基以及吡咯基-2,5-二酮。含有2个杂原子的示例性5元杂环基基团包括，但不限于二氧戊环基、氧杂硫杂环戊烷基、二硫杂环戊烷基以及噁唑烷-2-酮。包含三个杂原子的示例性5-元杂环基基团包括但不限于，三唑啉基、噁二唑啉基以及噻二唑啉基。含有1个杂原子的示例性6元杂环基基团包括，但不限于哌啶基、哌嗪基、四氢吡喃基、二氢吡啶基以及硫杂环己烷基(thianyl)。含有2个杂原子的示例性6元杂环基基团包括，但不限于哌嗪基、吗啉基、二硫杂环己烷基、二氧杂环己烷基。含有两个杂原子的示例性6元杂环基包括但不限于三嗪基或硫代吗啉基-1,1-二氧化物。包含一个杂原子的示例性7-元杂环基基团包括但不限于，氮杂环庚烷基、氧杂环庚烷基以及硫杂环庚烷基。含有1个杂原子的示例性8元杂环基基团包括，但不限于氮杂环辛烷基、氧杂环辛烷基和硫杂环辛烷基。融合至C_6芳基环(在此也称为5,6-二环杂环)的示例性5-元杂环基基团包括但不限于，吲哚啉基、异吲哚啉基、二氢苯并呋喃基、二氢苯并噻吩基、苯并噁唑啉酮基等等。融合至芳基环的示例性6-元杂环基基团(在此也称为6,6-二环杂环)包括但不限于，四氢喹啉基、四氢异喹啉基等等。

[0138] 如本文所用的“氨基”是指基团$-NR^{70}R^{71}$，其中R^{70}和R^{71}各自独立地是氢、C_1-C_8烷基、C_3-C_{10}环烷基、C_4-C_{10}杂环基、C_6-C_{10}芳基和C_5-C_{10}杂芳基。在一些实施例中，氨基指NH_2。

[0139] 如本文所用，“氰基”是指基团-CN。

[0140] 除非另有说明，本文所用的“卤基”或“卤素”独立地或作为另一取代基的一部分，是指氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)或碘(I)原子。

[0141] 如本文所用，“羟基”是指基团-OH。

[0142] 如本文所定义的烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基基团是任选地被取代的(例如,“被取代的”或“未被取代的”烷基、“被取代的”或“未被取代的”烯基、“被取代的”或“未被取代的”炔基、“被取代的”或“未被取代的”杂烷基、“被取代的”或“未被取代的”环烷基、“被取代的”或“未被取代的”杂环基、“取被代的”或“未被取代的”芳基或“被取代的”或“未被取代的”杂芳基基团)。通常,术语“取代的”,无论是否在术语“任选地”之前,意味着存在于基团(例如,碳或氮原子)上的至少一个氢是被允许的取代基替换的,例如,取代后的取代基产生稳定的化合物,例如,不能自发地通过重排、环化、消除或其他反应进行转化的化合物。除非另作说明,“取代的”基团在该基团的一个或多个可取代的位置具有取代基,并且当在任何给出的结构中的多于一个位置被取代时,在每个位置的取代基或是相同的或是不同的。术语“被取代的”预期包括被有机化合物的所有允许的取代基的取代,例如在此描述的导致稳定化合物的形成的取代基的任何一个。本披露涵盖任何和所有此类组合以便实现稳定化合物。出于本披露的目的,杂原子(例如氮)可以具有氢取代基和/或如在此描述的满足杂原子的化合价并且导致稳定部分的形成的任何合适的取代基。

[0143] 两个或更多个取代基可任选地连接以形成芳基、杂芳基、环烷基或杂环基。这种所谓的成环取代基通常但不一定与环状基础结构相连。在一个实施例中,成环取代基连接到基础结构的相邻成员上。例如,连接到环状基础结构的相邻成员上的两个成环取代基产生稠合的环结构。在另一个实施例中,成环取代基连接到基础结构的单一成员上。例如,连接到环状基础结构的单一成员上的两个成环取代基产生螺环结构。在又另一个实施例中,成环取代基连接到基础结构的非相邻成员上。

[0144] 在此描述的具有式(I)的化合物可以包含一个或多个不对称中心,并且因此可以呈不同异构体形式存在,例如对映异构体和/或非对映异构体。例如,在此描述的化合物可以处于单一的对映体、非对映体或几何异构体的形式,或可以处于立体异构体的混合物形式,包括外消旋混合物以及复函一种或多种立体异构体的混合物。可以通过本领域技术人员已知的方法(包括手性高压液相色谱(HPLC)和手性盐的形成和结晶)从混合物中分离异构体;或者优选的异构体可以通过不对称合成来制备。参见,例如,Jacques等人,Enantiomers,Racemates and Resolutions[对映异构体、消旋体和拆分](威利国际科学出版社(Wiley Interscience),纽约,1981);Wilen等人.,Tetrahedron[四面体]33:2725(1977);Eliel,Stereochemistry of Carbon Compounds[碳化合物的立体化学](McGraw-Hill,纽约,1962);和Wilen,Tables of Resolving Agents and Optical Resolutions[拆分剂表和光学拆分]p.268(E.L.Eliel编辑,巴黎圣母院大学出版社(Univ.of Notre Dame Press),巴黎圣母院(Notre Dame),在1972)。另外,本发明涵盖如在此描述的呈单一的异构体(基本上不含其他异构体)的化合物,并且可替代地,呈多种异构体的混合物。

[0145] 如本文所用,纯对映体化合物基本上不含化合物的其他对映体或立体异构体(即,对映体过量)。换句话说,化合物的“S”形式基本上不含化合物的“R”形式,因此是“R”形式的对映体过量。术语“对映体纯的”或“纯的对映体”表示该化合物包含大于75重量%、大于80重量%、大于85重量%、大于90重量%、大于91重量%、大于92重量%、大于93重量%、大于94重量%、大于95重量%、大于96重量%、大于97重量%、大于98重量%、大于99重量%、大于99.5重量%、大于99.9重量%的对映体。在某些实施例中,重量基于化合物的所有对映体

或立体异构体的总重量。

[0146] 本文所述的具有式(I)化合物还可包含一个或多个同位素取代。例如,H可以是任何同位素形式,包括^{1}H、^{2}H(D或氘)和^{3}H(T或氚);C可以是任何同位素形式,包括^{12}C、^{13}C和^{14}C;O可以是任何同位素形式,包括^{16}O和^{18}O;等。

[0147] 术语"药学上可接受的盐"意指包括活性化合物的盐,这些活性化合物取决于在此描述的化合物上发现的特定取代基用相对无毒的酸或碱制备。当本披露中使用的化合物含有相对酸性的官能团时,碱加成盐可以通过使这些化合物的中性形式与足量的所需碱(纯净的或在合适的惰性溶剂中)接触而获得。药学上可接受的碱加成盐的实例包括钠、钾、钙、铵、有机氨基或镁盐,或类似的盐。当本披露中使用的化合物含有相对碱性的官能团时,酸加成盐可以通过使这些化合物的中性形式与足量的所需酸(纯净的或在合适的惰性溶剂中)接触而获得。药学上可接受的酸加成盐的实例包括衍生自无机酸(如盐酸、氢溴酸、硝酸、碳酸、一氢碳酸、磷酸、一氢磷酸、二氢磷酸、硫酸、一氢硫酸、氢碘酸或亚磷酸等)的那些,以及衍生自有机酸(如乙酸、丙酸、异丁酸、马来酸、丙二酸、苯甲酸、琥珀酸、辛二酸、富马酸、乳酸、扁桃酸、邻苯二甲酸、苯磺酸、对甲苯磺酸、柠檬酸、酒石酸、甲磺酸等)的盐。还包括氨基酸盐如精氨酸盐等,以及有机酸如葡糖醛酸或半乳糖醛酸等的盐(参见例如Berge等人,Journal of Pharmaceutical Science[药物科学杂志]66:1-19(1977))。本披露中使用的某些特定化合物含有碱性和酸性官能团,其允许化合物转化成碱或酸加成盐。可以通过本领域技术人员已知的方法制备这些盐。本领域技术人员已知的其他药学上可接受的载体适用于本披露。

[0148] 本披露可以使用前药形式的具有式(I)的化合物。前药是那些在生理条件下容易发生化学变化以提供可用于本披露的化合物的化合物。另外,前药可以通过化学或生物化学方法在离体环境中转化为有用的具有式(I)的化合物。

[0149] 本文所述的某些具有式(I)的化合物可以非溶剂化形式以及溶剂化形式存在,包括水合形式。一般来说,溶剂化形式等效于非溶剂化形式并且包括在本披露的范围中。本文所述的某些具有式(I)的化合物可以以多种结晶或无定形形式存在。通常,所有物理形式对于本披露所考虑的用途是等同的,并且旨在落入本披露的范围内。

[0150] 术语"溶剂化物"是指通常通过溶剂分解反应与溶剂相缔合的化合物的形式。该物理缔合可以包括氢键结合。常用的溶剂包括水、甲醇、乙醇、乙酸、DMSO、THF、乙醚等。本文所述的化合物可以制备为例如结晶的形式,并且可以是被溶剂化的。适合的溶剂化物包括药学上可接受的溶剂化物并且进一步包括化学计量的溶剂化物和非化学计量的溶剂化物。

[0151] 术语"水合物"是指与水相缔合的化合物。典型地,包含在化合物的水合物中的水分子的数目与水合物中的化合物分子的数目处于一定的比例。因此,化合物的水合物可以例如由一般的化学式$R \cdot x\ H_2O$代表,其中R是化合物并且其中x是比0大的数字。

[0152] 如本文所使用的术语"互变异构体"是指以下化合物,其具有可互换形态的化合物结构并且在氢原子和电子移位方面变化。因此,两种结构可以通过π电子和原子(通常是H)的运动处于平衡。例如,烯醇类和酮类是互变异构体,因为它们可通过用酸或碱处理进行快速地相互转换。互变异构形式可以与获得感兴趣的化合物的最优化学反应性和生物活性相关。

[0153] 本文所用的符号""是指与实体(例如聚合物(例如,形成水凝胶的聚合物,例

如藻酸盐)或可植入元件(例如,颗粒、装置或材料))的连接。由“ ”表示的连接可以指与实体(例如聚合物或可植入元件)的直接连接,或者可以指通过连接基团与实体的连接。如本文所述的“连接基团”是指用于将具有式(I)化合物与实体(例如,如本文所述的聚合物或可植入元件)连接的部分,并且可包括在本领域中已知的任何连接化学。示例性连接基团的列表概述在Bioconjugate Techniques[生物共轭技术](第3版,Greg T.Hermanson,沃尔瑟姆,MA:爱思唯尔公司(Elsevier,Inc),2013),其全部内容通过引用并入本文。在一些实施例中,连接基团包括烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-C(O)-、-OC(O)-、-N(R^C)-、-N(R^C)C(O)-、-C(O)N(R^C)-、-N(R^C)N(R^D)-、-NCN-、-C(=N(R^C)(R^D))O-、-S-、-S(O)$_x$-、-OS(O)$_x$-、-N(R^C)S(O)$_x$-、-S(O)$_x$N(R^C)-、-P(R^F)$_y$-、-Si(OR^A)$_2$-、-Si(R^G)(OR^A)-、-B(OR^A)-、或金属,其中R^A、R^C、R^D、R^F、R^G、x和y各自独立地如本文所述。在一些实施例中,连接基团包含胺、酮、酯、酰胺、烷基、烯基、炔基或硫醇。在一些实施例中,连接基团是交联剂。在一些实施例中,连接基团是-C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-,其中亚烷基被R^1取代,并且R^1如本文所述。在一些实施例中,连接基团是-C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-,其中亚烷基被1-2个烷基(例如1-2个甲基)取代。在一些实施例中,连接基团是-C(O)C(CH_3)$_2$-。在一些实施例中,连接基团是-C(O)(亚甲基)-,其中亚烷基被1-2个烷基(例如1-2个甲基)取代。在一些实施例中,连接基团是-C(O)CH(CH_3)-。在一些实施例中,连接基团是-C(O)C(CH_3)-。

[0154] 颗粒的特征

[0155] 本披露的特征在于包含第一室、第二室和例如本文所述的具有式(I)化合物的颗粒。颗粒可以是球形的(例如,水凝胶胶囊)或任何其他形状。颗粒可包括诸如金属、金属合金、陶瓷、聚合物、纤维,惰性材料及其组合的材料。颗粒可以完全由一种类型的材料制成,或者可以包含第二室内和任何第一室内的许多其他材料。

[0156] 在一些实施例中,该第一室用具有式(I)的化合物修饰。在一些实施例中,该第二室用具有式(I)的化合物修饰。在一些实施例中,第一室和第二室均用具有式(I)的化合物独立地修饰。

[0157] 在一些实施例中,颗粒具有最大线性尺寸(LLD),例如平均直径,或大于1毫米(mm),优选1.5mm或更大的尺寸。在一些实施例中,颗粒的直径或尺寸可以大至10mm。例如,本文所述的颗粒的尺寸范围是0.5mm至10mm、1mm至10mm、1mm至8mm、1mm至6mm、1mm至5mm、1mm至4mm、1mm至3mm、1mm至2mm、1mm至1.5mm、1.5mm至8mm、1.5mm至6mm、1.5mm至5mm、1.5mm至4mm、1.5mm至3mm、1.5mm至2mm、2mm至8mm、2mm至7mm、2mm至6mm、2mm至5mm、2mm至4mm、2mm至3mm、2.5mm至8mm、2.5mm至7mm、2.5mm至6mm、2.5mm至5mm、2.5mm至4mm、2.5mm至3mm、3mm至8mm、3mm至7mm、3mm至6mm、3mm至5mm、3mm至4mm、3.5mm至8mm、3.5mm至7mm、3.5mm至6mm、3.5mm至5mm、3.5mm至4mm、4mm至8mm、4mm至7mm、4mm至6mm、4mm至5mm、4.5mm至8mm、4.5mm至7mm、4.5mm至6mm、4.5mm至5mm、5mm至8mm、5mm至7mm、5mm至6mm、5.5mm至8mm、5.5mm至7mm、5.5mm至6mm、6mm至8mm、6mm至7mm、6.5mm至8mm、6.5mm至7mm、7mm至8mm、或7.5mm至8mm。在一些实施例中,颗粒的平均直径或尺寸在1mm至8mm之间。在一些实施例中,颗粒的平均直径或尺寸在1mm至4mm之间。在一些实施例中,颗粒的平均直径或尺寸在1mm至2mm之间。在一些实施例中,颗粒的平均直径或尺寸在1.5mm至2mm之间。

[0158] 在一些实施例中,颗粒具有最大线性尺寸(LLD),例如平均直径,或1毫米(mm)或更小的尺寸。在一些实施例中,颗粒的尺寸范围是0.3mm至1mm、0.4mm至1mm、0.5mm至1mm、

0.6mm至1mm、0.7mm至1mm、0.8mm至1mm或0.9mm至1mm。

[0159] 在一些实施例中，第二(外)室完全围绕第一(内)室，并且第二室的内边界与第一室的外边界形成界面，例如，如图1所示。在这样的实施例中，第二(外)室的厚度是指第二室的外边界与两个室之间的界面之间的平均距离。在一些实施例中，外室的厚度大于约10纳米(nm)，优选100nm或更大并且可以大至1mm。例如，本文描述的颗粒中的外室的厚度可以是10纳米至1毫米、100纳米至1毫米、500纳米至1毫米、1微米(μm)至1毫米、1μm至1mm、1μm至500μm、1μm至250μm、1μm至1mm、5μm至500μm、5μm至250μm、10μm至1mm、10μm至500μm、或10μm至250μm。在一些实施例中，外室的厚度为100纳米至1毫米，1μm至1mm，1μm至500μm或5μm至1mm。

[0160] 在一些实施例中，颗粒包含至少一个孔或开口，例如以允许材料的自由流动。在一些实施例中，颗粒的平均孔径为约0.1μm至约10μm。例如，平均孔径可以是0.1μm至10μm、0.1μm至5μm、0.1μm至2μm、0.15μm至10μm、0.15μm至5μm、0.15μm至2μm、0.2μm至10μm、0.2μm至5μm、0.25μm至10μm、0.25μm至5μm、0.5μm至10μm、0.75μm至10μm、1μm至10μm、1μm至5μm、1μm至2μm、2μm至10μm、2μm至5μm、或5μm至10μm。在一些实施例中，颗粒的平均孔径为约0.1μm至10μm。在一些实施例中，颗粒的平均孔径为约0.1μm至5μm。在一些实施例中，颗粒的平均孔径为约0.1μm至1μm。在一些实施例中，颗粒的第一室和第二室的平均孔径基本相同。在一些实施例中，颗粒的第一室和第二室的平均孔径相差约1.5%、2%、5%、7.5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、或更多。在一些实施例中，颗粒的平均孔径(例如，第一室的平均孔径和/或第二隔室的平均孔径)取决于许多因素，例如每个室内的材料和具有式(I)的化合物的存在和密度。

[0161] 在一些实施例中，颗粒包含金属或金属合金。第一室，第二室或两个室可包括金属或金属合金。示例性金属或金属合金包括钛和钛族合金(例如，镍钛诺、镍钛合金、热记忆合金材料)、铂、铂族合金、不锈钢、钽、钯、锆、铌、钼、镍铬合金、铬钼合金或某些钴合金(例如钴-铬和钴-铬-镍合金，例如ELGILOY®和PHYNOX®)。例如，金属材料可以是316级不锈钢(SS316L)(由Fe、<0.3%C、16%-18.5%Cr、10%-14%Ni、2%-3%Mo、<2%Mn、<1%Si、<0.45%P、以及<0.03%S构成)。在含金属的颗粒中，金属的量(例如，以重量%，实际重量计)可以是至少5%，例如，至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或更多，例如w/w;少于20%，例如少于20%、15%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%或更少。

[0162] 在一些实施例中，该颗粒包含陶瓷。第一室，第二室或两个隔室可包括陶瓷。示例性陶瓷材料包括过渡元素的氧化物、碳化物或氮化物，例如氧化钛、氧化铪、氧化铱、氧化铬、氧化铝和氧化锆。也可以使用硅基材料，例如二氧化硅。在含陶瓷的颗粒中，陶瓷的量(例如，以重量%，实际重量计)可以是至少5%，例如，至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或更多，例如w/w;少于20%，例如少于20%、15%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%或更少。

[0163] 在一些实施例中，该颗粒包含聚合物。第一室，第二室或两个隔室可包括聚合物。聚合物可以是直链、支链或交联聚合物，或具有选择的分子量范围、聚合度、粘度或熔体流动速率的聚合物。支链聚合物可包括以下一种或多种类型:星形聚合物、梳形聚合物、刷状聚合物、树枝化聚合物、梯状和树枝状聚合物。聚合物可以是热响应性聚合物，例如凝胶(例

如,在暴露于热或某一温度后变成固体或液体)或可光交联的聚合物。示例性聚合物包括聚苯乙烯、聚乙烯、聚丙烯、聚乙炔、聚(氯乙烯)(PVC)、聚烯烃共聚物、聚(氨酯)、聚丙烯酸酯和聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酰胺和聚甲基丙烯酰胺、聚(甲基丙烯酸甲酯)、聚(甲基丙烯酸2-羟乙酯)、聚酯、聚硅氧烷、聚二甲基硅氧烷(PDMS)、聚醚、聚(原酸酯)、聚(碳酸酯)、聚(羟基链烷酸酯)、聚氟烃、PEEK®、Teflon®(聚四氟乙烯、PTFE)、PEEK、硅酮、环氧树脂、Kevlar®、Dacron®(由乙二醇和对苯二甲酸得到的缩聚物)、聚乙二醇、尼龙、聚烯烃、酚醛树脂、天然和合成弹性体、粘合剂和密封剂、聚烯烃、聚砜、聚丙烯腈、生物聚合物如多糖和天然乳胶、胶原蛋白、纤维素聚合物(如烷基纤维素等)、聚乙二醇和甲基丙烯酸2-羟乙酯(HEMA)、多糖、聚(乙醇酸)、聚(L-乳酸)(PLLA)、聚(乳酸乙醇酸)(PLGA)、聚二噁烷酮(PDA)或外消旋聚(乳酸)、聚碳酸酯(如聚酰胺(如尼龙))、氟塑料、碳纤维、琼脂糖、藻酸盐、壳聚糖及其共混物或共聚物。在含聚合物的颗粒中,聚合物的量(例如,以颗粒的重量%,聚合物的实际重量计)可以是至少5%,例如,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或更多,例如w/w;少于20%,例如少于20%、15%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%或更少。

[0164] 在一些实施例中,聚合物包含聚乙烯。第一室,第二室或两个隔室可包括聚乙烯。示例性的聚乙烯包括超低密度聚乙烯(ULDPE)(例如,具有密度为0.890至0.905g/cm^3、含有共聚单体的聚合物);非常低密度的聚乙烯(VLDPE)(例如,具有密度为0.905至0.915g/cm^3、含有共聚单体的聚合物);线性低密度聚乙烯(LLDPE)(例如,具有密度为0.915至0.935g/cm^3、含有共聚单体的聚合物);低密度聚乙烯(LDPE)(例如,具有密度为约0.915-0.935g/m^3的聚合物);中密度聚乙烯(MDPE)(例如,具有密度为0.926-0.940g/cm^3、可含有或不含共聚单体的聚合物);高密度聚乙烯(HDPE)(例如,具有密度为0.940-0.970g/cm^3、可含有或不含共聚单体的聚合物)。

[0165] 在一些实施例中,该颗粒包含聚丙烯。第一室,第二室或两个隔室可包括聚丙烯。示例性的聚丙烯包括均聚物、无规共聚物(同相共聚物)和抗冲共聚物(多相共聚物),例如McKeen,Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices[医药和医疗器械中的聚合物应用手册],3-Plastics Used in Medical Devices[3-医疗器械中使用的塑料](2014):21-53中所述,其全部内容通过引用并入本文。

[0166] 在一些实施例中,该颗粒包含聚苯乙烯。第一室,第二室或两个隔室可包括聚苯乙烯。示例性的聚苯乙烯包括通用目的或晶体(PS或GPPS)、高抗冲击性(HIPS)和间同立构(SPS)聚苯乙烯。

[0167] 在一些实施例中,颗粒包含热塑性弹性体(TPE)。第一室,第二室或两个隔室可包括TPE。示例性TPE包括(i)TPA-聚酰胺TPE,其包含交替的硬和软区段的具有硬嵌段中的酰胺化学键和软嵌段中的醚和/或酯键的嵌段共聚物;(ii)TPC-共聚酯TPE,由交替的硬区段和软区段的嵌段共聚物组成,主链中的化学键为酯和/或醚;(iii)TPO-烯烃TPE,由聚烯烃和常规橡胶的共混物组成,该共混物中的橡胶相具有很少或没有交联;(iv)TPS-苯乙烯类TPE,至少由苯乙烯和特定二烯的三嵌段共聚物组成,其中两个末端嵌段(硬嵌段)是聚苯乙烯,内部嵌段(一个或多个软嵌段)是聚二烯或氢化聚二烯;(v)TPU-聚氨酯TPE,由交替的硬和软区段的嵌段共聚物组成,在硬嵌段中具有聚氨酯化学键,在软嵌段中具有醚、酯或碳酸酯键或它们的混合;(vi)TPV-热塑性硫化橡胶,由热塑性材料和常规橡胶的混合物组成,其

中橡胶在共混和混合步骤中通过动态硫化过程交联;(vii)TPZ-未分类的TPE,其包含除TPA、TPC、TPO、TPS、TPU和TPV分组的那些之外的任何组合物或结构。

[0168] 在一些实施例中,颗粒包含多糖,并且多糖是藻酸盐。藻酸盐是由β-D-甘露糖醛酸(M)和α-L-古洛糖醛酸(G)组成的多糖。在一些实施例中,藻酸盐是高古洛糖醛酸(G)藻酸盐,并且包含大于约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或更多古洛糖醛酸(G)。在一些实施例中,藻酸盐是高甘露糖醛酸(M)藻酸盐,并且包含大于约50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或更多甘露糖醛酸(M)。在一些实施例中,M:G的比例为约1。在一些实施例中,M:G的比例为小于1。在一些实施例中,M:G的比例为大于1。在含藻酸盐的颗粒中,藻酸盐的量(例如,以颗粒的重量%,藻酸盐的实际重量计)可以是至少5%,例如,至少5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%、99%或更多,例如w/w;少于20%,例如少于20%、15%、10%、5%、1%、0.5%、0.1%或更少。

[0169] 在一些实施例中,第一室和第二室均包含相同的聚合物。在一些实施例中,第一室和第二室包含不同的聚合物。在一些实施例中,第一室包含藻酸盐。在一些实施例中,第二室包含藻酸盐。在一些实施例中,第一室和第二室均包含藻酸盐。在一些实施例中,第一室中的藻酸盐不同于第二室中的藻酸盐。在一些实施例中,第一室包含藻酸盐,并且第二室包含不同的聚合物(例如,多糖,例如透明质酸盐或壳聚糖)。在一些实施例中,第二室包含藻酸盐,并且第一室包含不同的聚合物(例如,多糖,例如透明质酸盐或壳聚糖)。

[0170] 第一室和第二室均可包括单一组分(例如,一种聚合物)或多于一种组分(例如,聚合物的共混物)。在一些实施例中,第一室仅包含藻酸盐(例如,化学修饰的藻酸盐,或未经修饰的藻酸盐和化学修饰的藻酸盐的共混物)。在一些实施例中,第二室仅包含藻酸盐(例如,化学修饰的藻酸盐,或未经修饰的藻酸盐和化学修饰的藻酸盐的共混物)。在一些实施例中,第一室和第二室独立地仅包含藻酸盐(例如,化学修饰的藻酸盐,或未经修饰的藻酸盐和化学修饰的藻酸盐的共混物)。

[0171] 在一些实施例中,第一和第二室中的一个或两个中的聚合物是(i)低分子量藻酸盐,例如,具有大约MW<75kDa且G:M比≥1.5,(ii)中等分子量的藻酸盐,例如,具有约75-150kDa的分子量和G:M比≥1.5,(iii)高分子量藻酸盐,例如,具有约150kDa-250kDa的MW和G:M比≥1.5,(iv)或两种或更多种这些藻酸盐的混合物。在实施例中,第一(内)室中的聚合物是未经修饰的高分子量藻酸盐或未经修饰的中等分子量藻酸盐,并且第二(外)室中的聚合物是化学修饰的藻酸盐(例如,用表2中所示的化合物101修饰的藻酸盐)和未经修饰的藻酸盐(例如,CM-LMW-Alg-101:U-HMW-Alg的70:30共混物或60:40共混物,其可以如下面实例中所述制备)的共混物。

[0172] 在一些实施例中,颗粒包含藻酸盐,并且具有式(I)的化合物共价连接至藻酸盐中的一些或所有单体。在一些实施例中,藻酸盐中的一些或所有单体用相同的具有式(I)的化合物修饰。在一些实施例中,藻酸盐中的一些或所有单体用不同的具有式(I)的化合物修饰。

[0173] 在一些实施例中,颗粒的第一室的聚合物用一种具有式(I)的化合物修饰,并且颗粒的第二室的聚合物用不同的具有式(I)的化合物修饰。在一些实施例中,颗粒包含用具有式(I)的化合物修饰的聚合物和未经修饰的聚合物(例如未用具有式(I)的化合物修饰的聚合物)的混合物。在一些实施例中,第一室包含用具有式(I)的化合物修饰的聚合物和未经

修饰的聚合物(例如未用具有式(I)的化合物修饰的聚合物)的混合物。在一些实施例中,第二室包含用具有式(I)的化合物修饰的聚合物和未经修饰的聚合物(例如未用具有式(I)的化合物修饰的聚合物)的混合物。

[0174] 本文所述颗粒的聚合物可以在聚合物的一个或多个单体上用具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐进行修饰。颗粒的经修饰的聚合物可以存在于颗粒的第一(内)室、颗粒的第二(外)室,或颗粒的第一(内)和第二(外)室中。在一些实施例中,经修饰的聚合物仅存在于第二室(其包括外部颗粒表面)中。在一些实施例中,聚合物的至少0.5%的单体用具有式(I)的化合物修饰(例如,聚合物的至少1%、2.5%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%或更多的单体用具有式(I)的化合物修饰)。在一些实施例中,聚合物的0.5%至50%、10%至90%、10%至50%或25%至75%的单体用具有式(I)的化合物修饰。在一些实施例中,聚合物的1%至20%的单体用具有式(I)的化合物修饰。在一些实施例中,聚合物的1%至10%的单体用具有式(I)的化合物修饰。

[0175] 在一些实施例中,聚合物(例如藻酸盐)(当用具有式(I)化合物(例如,表2的化合物101)修饰时)包含任何以下值的%N(与未经修饰的聚合物例如藻酸盐相比)增加:(i)按重量计至少0.1%、0.2%、0.5%、1.0%、1.5%、2%、2.5%、3%、3.5%、4%、4.5%、5%、5.5%、6%、6.5%、7%、7.5%、8%、8.5%、9%、9.5%或10%;(ii)按重量计0.1%至10%,(iii)按重量计0.1%至2%N;(iv)按重量计2%至4%;(v)按重量计4%至8%;(vi)按重量计5%至9%N;(vii)按重量计6%至9%N,(viii)按重量计6%至8%N;(ix)按重量计7%至9%N;和(x)按重量计8%至9%N,其中,在每种情况下,%N通过燃烧分析确定(例如,如本文实施例2中所述),并且对应于经修饰的聚合物中具有式(I)的化合物的量。

[0176] 颗粒(例如,其中的第一室或第二室)可以包含赋予颗粒特定特征的量的具有式(I)的化合物。例如,颗粒表面(例如,外室的外部)可以包含一定浓度或密度的具有式(I)的化合物,使得颗粒在受试者中是去纤维化的(即,减轻异物反应)。在实施例中,颗粒表面包含用去纤维化有效量的化合物101化学修饰的藻酸盐。在实施例中,去纤维化有效量的化合物101产生约0.5%至2%N、2%至4%N、约4%至6%N、约6%至8%或约8%至10%N的%N增加(与未改性的藻酸盐相比),其中%N通过燃烧分析确定(例如,如本文实例2中所述)并且对应于经修饰的藻酸盐中的化合物101的量。

[0177] 如以下实施例中所述,在两室藻酸盐水凝胶胶囊的外室中某些更高浓度的具有式(I)的化合物损害了胶囊的机械强度,这可能是由于藻酸盐分子上可用于交联的位点减少。因此,在实施例中,颗粒表面(例如,外室的外部)可以包含一定浓度或密度的具有式(I)的化合物,其足够高以使颗粒去纤维化但是低于没有达到所需的机械强度的阈值。在实施例中,所需的机械强度是指当受到以下任何一种或多种应激源时,颗粒保持其形状和/或保持完整的能力:(i)压缩(例如,以恒定速率);(ii)在对受试者施用(例如,植入)期间;以及(iii)在所需的植入期后。可以在将颗粒植入受试者之前和/或在回收植入的颗粒之后(例如,植入后在1天、2天、3天、4天、5天、6天、1周、2周、3周、4周、6周、8周、12周或更长时间)。在实施例中,通过使用质地分析仪进行破裂测试来确定在制造之后但在植入之前确定的颗粒(例如,水凝胶胶囊)的所需机械强度。

[0178] 在实施例中,使用连接到5kg称重传感器的5mm探针在TA.XT plus质地分析仪(稳

定大系统公司(Stable Micro Systems),萨里,英国)上进行水凝胶胶囊的机械测试。将各个胶囊置于平台上,并通过探针以0.5mm/sec的固定速率从上方压缩。当测量1g的排斥力时,检测探针和胶囊之间的接触。探头继续行进探头与平台接触高度之间90%的距离,将胶囊压缩到爆裂点。测量对探针的压缩力的阻力,并且可以绘制为探针行程(力相比位移曲线)的函数。通常,在胶囊完全破裂之前,它将稍微破裂并且对探针施加的力将少量减少。可以对分析宏进行编程以第一次检测在力相比位移曲线中发生0.25-0.5g的减少。当发生这种情况时探针施加的力称为初始破裂力。在实施例中,本文所述颗粒的所需机械强度(例如,二室水凝胶胶囊)具有大于1、1.5、2、2.5或3克或至少2克的初始破裂力。

[0179] 在实施例中,颗粒的所需机械强度是在植入受试者后在所需时间点保持完整的能力,例如,当通过光学显微镜观察时(例如通过本文实例中所述的明场成像观察)在从免疫活性小鼠中回收之后从受试者取出的水凝胶胶囊的外室和内室是明显完整的。

[0180] 在实施例中,颗粒表面包含用化合物101化学修饰的藻酸盐,其量使颗粒具有去纤维化性质和所需的机械强度,例如,经修饰的藻酸盐中化合物101的浓度或密度产生与以下任何值相比%N(与未经修饰的藻酸盐相比)增加:(i)按重量计1%至3%,(ii)按重量计2%至4%N;(iii)按重量计4%至8%;(iv)按重量计5%至9%N;(v)按重量计6%至9%,(vi)按重量计6%至8%N;(vii)按重量计7%至9%N;和(ix)按重量计8%至9%N;其中,在每种情况下,%N通过燃烧分析确定(例如,如本文实施例2中所述),并且对应于经修饰的藻酸盐中具有式(I)的化合物的量。

[0181] 当颗粒(例如,其中的第一室或第二室)包含藻酸盐时,可以使用本领域已知的任何合适的方法用具有式(I)的化合物对藻酸盐进行化学修饰。例如,可以活化藻酸盐羧酸部分以与一个或多个胺官能化化合物偶联,以获得用具有式(I)的化合物修饰的藻酸盐。可以将藻酸盐聚合物溶解在水(30mL/g聚合物)中并用2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(0.5当量)和N-甲基吗啉(1当量)处理。可以向该混合物中加入溶解在缓冲液或溶剂如乙腈(0.3M)中的具有式(I)的化合物的溶液。可将反应温热至例如55℃,保持16小时,然后冷却至室温并通过旋转蒸发浓缩。然后可将残余物溶于缓冲液或溶剂例如水中。然后可以将混合物过滤,例如通过氰基改性的硅胶床(Silicycle)过滤,并且将滤饼用水洗涤。然后可以将所得溶液相对于缓冲液或水透析(10,000MWCO膜)24小时,例如,更换缓冲液或水至少一次,至少两次,至少三次或更多次。可以例如通过冷冻干燥浓缩所得溶液,得到所需的化学修饰的藻酸盐。

[0182] 在一些实施例中,本文描述的颗粒包含细胞。在一些实施例中,将细胞工程化以产生治疗剂(例如,蛋白质或多肽,例如抗体、蛋白质、酶或生长因子)。在一些实施例中,细胞与第一室一起设置。在一些实施例中,细胞与第二室一起设置。在一些实施例中,细胞设置在第一室中,并且第二室不包含细胞。颗粒可包含蛋白质或多肽的活性或非活性片段,例如葡萄糖氧化酶(例如,用于葡萄糖传感器)、激酶、磷酸酶、加氧酶、氢化酶、还原酶。

[0183] 在一些实施例中,颗粒能够防止超过一定尺寸的材料通过孔或开口。在一些实施例中,颗粒能够防止大于50kD、75kD、100kD、125kD、150kD、175kD、200kD、250kD、300kD、400kD、500kD、750kD、或1,000kD的材料通过。

[0184] 本文描述的颗粒可以配置成释放治疗剂,例如外源性物质,例如本文所述的治疗剂。在一些实施例中,治疗剂是具有式(I)的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例

中，治疗剂是生物材料。在一些实施例中，治疗剂是核酸(例如，RNA或DNA)、蛋白质(例如，激素、酶、抗体、抗体片段、抗原或表位)、小分子、脂质、药物、疫苗或其任何衍生物。

[0185] 可以作为用于植入或施用受试者的制剂或组合物提供颗粒(例如，如本文所述)。在一些实施例中，制剂或组合物中至少20％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％的颗粒具有如本文所述的特征，例如平均直径或平均孔径。

[0186] 在一些实施例中，颗粒靶标是或设计针对身体某个系统，例如神经系统(例如，外周神经系统(PNS)或中枢神经系统(CNS))、血管系统、骨骼系统、呼吸系统、内分泌系统、淋巴系统、生殖系统或胃肠道。在一些实施例中，颗粒靶向CNS。在一些实施例中，颗粒靶标是或设计针对身体的一部分，例如血液、眼睛、脑、皮肤、肺、胃、口、耳、腿、足、手、肝、心脏、肾、骨、胰腺、脾脏、大肠、小肠、脊髓、肌肉、卵巢、子宫、阴道或阴茎。

[0187] 颗粒可以被配置用于植入，或植入或设置在身体的任何部位中或上。在一些实施例中，颗粒被配置用于植入，植入或设置于受试者的网膜中，受试者的皮下脂肪中，或受试者的肌肉组织中。颗粒可以配置用于植入，或植入或设置在皮肤上或皮肤中；粘膜表面、体腔、腹膜腔(例如小网膜囊)；中枢神经系统，例如脑或脊髓；器官，例如心脏、肝、肾、脾、肺、淋巴系统、脉管系统、口腔、鼻腔、牙齿、牙龈、胃肠(GI)道；骨；臀部；脂肪组织；肌肉组织；循环血液；眼睛(例如，眼内)；乳房、阴道；子宫、关节，例如膝关节或髋关节，或脊柱。

[0188] 在一些实施例中，颗粒被配置用于植入或植入或设置于腹膜腔(例如，网膜)中。在一些实施例中，颗粒被配置用于植入或植入或设置于小网膜囊(也称为网膜囊(omental bursa)或法氏囊网膜(bursalis omentum))中或小网膜囊上。小网膜囊指的是由网膜形成的位于腹部的腔，并且紧邻例如大网膜、小网膜、胃、小肠、大肠、肝、脾、胃脾韧带、肾上腺、和胰腺。通常，小网膜囊通过网膜孔(即，温斯洛孔(Foramen of Winslow))连接到较大膜囊。在一些实施例中，小网膜囊包含高浓度的脂肪组织。可以通过注射或导管将颗粒植入腹膜腔(例如，网膜，例如小网膜囊)中或者设置于腹膜腔内的表面(例如，网膜，例如小网膜囊)。M.Pellicciaro等人(2017)CellR4 5(3):e2410(其通过引用整体并入本文)提供了将颗粒植入或设置于网膜(例如小网膜囊)中的其他考虑因素。

[0189] 在一些实施例中，颗粒被配置用于植入或植入或设置于中枢神经系统(CNS)中，例如脑或脊髓及其相应的组织和腔。在脊椎动物中，CNS包含在背部体腔内，包括颅腔和椎管。在一些实施里中，颗粒被配置用于植入或植入或设置于脑内空间，例如实质内空间、心室内空间或硬膜下空间。颗粒可以植入CNS中或通过颅骨中形成的孔并通过注射或导管递送设置在CNS内的表面上。

[0190] 在一些实施例中，颗粒被配置用于植入或植入或置于眼睛中。适于植入或设置颗粒的示例性区域包括眼内的任何表面或腔，例如视网膜、角膜、上皮、房水或玻璃体空间。在一些实施例中，颗粒被配置用于植入或植入或置于玻璃体空间中。颗粒可以植入眼睛中或通过切口和/或注射设置在眼睛内的表面上。

[0191] 在一些实施例中，颗粒易于从受试者回收，例如，不会对受试者造成伤害或不会引起周围组织的显著破坏。在实施例中，可以在颗粒与周围组织的手术分离最小或没有的情况下回收颗粒，例如，通过最小微创手术方法、提取或切除。

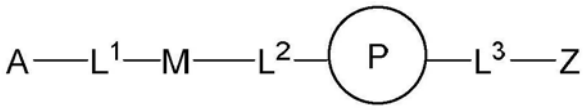
[0192] 颗粒可以配置用于有限的暴露(例如，少于2天，1天、24小时、20小时、16小时、12小

时、10小时、8小时、6小时、5小时、4小时、3小时、2小时、1小时或更短时间)。颗粒可配置为长时间暴露(例如,至少2天、3天、4天、5天、6天、7天、1周、2周、3周、4周、5周、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、24个月、1年、1.5年、2年、2.5年、3年、3.5年、4年或更长时间)。颗粒可配置为永久暴露(例如,至少6个月、7个月、8个月、9个月、10个月、11个月、12个月、13个月、14个月、15个月、16个月、17个月、18个月、19个月、20个月、21个月、22个月、23个月、24个月、1年、1.5年、2年、2.5年、3年、3.5年、4年或更长时间)。

[0193] 在一些实施例中,颗粒不是WO 2012/112982、WO 2012/167223、WO2014/153126、WO 2016/019391、WO 2016/187225、US 2012-0213708、US2016-0030359和US 2016-0030360中任一项中公开的颗粒。

[0194] 化合物

[0195] 在一些实施例中,本文所述的颗粒包含具有式(I)的化合物。在一些实施方案中,该颗粒的第一室和/或第二室包含具有式(I)的化合物:

[0196] 

(I),

[0197] 或者其药学上可接受的盐,其中:

[0198] A是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-N(R^C)-、-N(R^C)C(O)-、-C(O)N(R^C)-、-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-、-N(R^C)C(O)(C_2-C_6-亚烯基)-、-N(R^C)N(R^D)-、-NCN-、-C(=N(R^C)(R^D))O-、-S-、-S(O)$_x$-、-OS(O)$_x$-、-N(R^C)S(O)$_x$-、-S(O)$_x$N(R^C)-、-P(R^F)$_y$-、-Si(OR^A)$_2$-、-Si(R^G)(OR^A)-、-B(OR^A)-、或金属,其中每一个任选地与连接基团(例如,本文所述的连接基团)连接并且任选地被一个或多个R^1取代;

[0199] L^1和L^3各自独立地是键、烷基或杂烷基,其中每个烷基和杂烷基任选被一个或多个R^2取代;

[0200] L^2是键;

[0201] M是不存在、烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基,其各自任选地被一个或多个R^3取代;

[0202] P是不存在、环烷基、杂环基、或杂芳基,其各自任选地被一个或多个R^4取代;

[0203] Z是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、-OR^A、-C(O)R^A、-C(O)OR^A、-C(O)N(R^C)(R^D)、-N(R^C)C(O)R^A、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或多个R^5取代;

[0204] 每个R^A、R^B、R^C、R^D、R^E、R^F和R^G独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、叠氮基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基,其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或多个R^6取代;

[0205] 或R^C和R^D与它们所连接的氮原子一起形成任选地被一个或多个R^6取代的环(例如5-7元环);

[0206] 每个R^1、R^2、R^3、R^4、R^5和R^6独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、叠氮基、氧

代、-OR^{A1}、-C(O)OR^{A1}、-C(O)R^{B1}、-OC(O)R^{B1}、-N(R^{C1})(R^{D1})、-N(R^{C1})C(O)R^{B1}、-C(O)N(R^{C1})、SR^{E1}、S(O)$_x$R^{E1}、-OS(O)$_x$R^{E1}、-N(R^{C1})S(O)$_x$R^{E1}、-S(O)$_x$N(R^{C1})(R^{D1})、-P(R^{F1})$_y$、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或多个R^{7}取代；

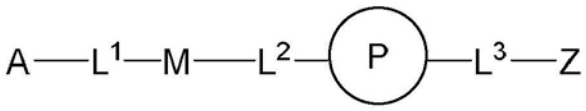
[0207] 每个R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}、R^{E1}和R^{F1}独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基任选地被一个或多个R^{7}取代；

[0208] 每个R^{7}独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、氧代、羟基、环烷基、或杂环基；

[0209] x是1或2；并且

[0210] y是2、3或4。

[0211] 在一些实施例中，具有式(I)的化合物是具有式(I-a)的化合物：

[0212] 

(I-a)，

[0213] 或其盐，其中：

[0214] A是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-N(R^C)-、-N(R^C)C(O)-、-C(O)N(R^C)-、-N(R^C)N(R^D)-、-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-、-N(R^C)C(O)(C_2-C_6-亚烯基)-、-NCN-、-C(=N(R^C)(R^D))O-、-S-、-S(O)$_x$-、-OS(O)$_x$-、-N(R^C)S(O)$_x$-、-S(O)$_x$N(R^C)-、-P(R^F)$_y$-、-Si(OR^A)$_2$-、-Si(R^G)(OR^A)-、-B(OR^A)-、或金属，其中每一个任选地与连接基团(例如，本文所述的连接基团)连接并且任选地被一个或多个R^{1}取代；

[0215] L^{1}和L^{3}各自独立地是键、烷基或杂烷基，其中每个烷基和杂烷基任选被一个或多个R^{2}取代；

[0216] L^{2}是键；

[0217] M是不存在、烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其各自任选地被一个或多个R^{3}取代；

[0218] P是任选被一个或多个R^{4}取代的杂芳基；

[0219] Z是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基、其各自任选地被一个或多个R^{5}取代；

[0220] 每个R^A、R^B、R^C、R^D、R^E、R^{F}和R^{G}独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、叠氮基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或多个R^{6}取代；

[0221] 或R^{C}和R^{D}与它们所连接的氮原子一起形成任选地被一个或多个R^{6}取代的环(例如5-7元环)；

[0222] 每个R^1、R^2、R^3、R^4、R^{5}和R^{6}独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、叠氮基、氧代、-OR^{A1}、-C(O)OR^{A1}、-C(O)R^{B1}、-OC(O)R^{B1}、-N(R^{C1})(R^{D1})、-N(R^{C1})C(O)R^{B1}、-C(O)N(R^{C1})、SR^{E1}、S(O)$_x$R^{E1}、-OS(O)$_x$R^{E1}、-N(R^{C1})S(O)$_x$R^{E1}、-S(O)$_x$N(R^{C1})(R^{D1})、-P(R^{F1})$_y$、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或

多个R^7取代；

[0223] 每个R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}、R^{E1}和R^{F1}独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基任选地被一个或多个R^7取代；

[0224] 每个R^7独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、氧代、羟基、环烷基、或杂环基；

[0225] x是1或2；并且

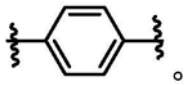
[0226] y是2、3或4。

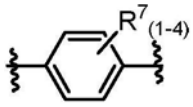
[0227] 在一些实施例中，对于具有式(I)或(I-a)，A是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-N(R^C)C(O)-、-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-、-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烯基)-、或-N(R^C)-。在一些实施例中，A是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、或-N(R^C)-。在一些实施例中，A是烷基、烯基、炔基、杂烷基、-O-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、或-N(R^C)-。在一些实施例中，A是烷基、-O-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)、或-N(R^C)-。在一些实施例中，A是-N(R^C)C(O)-、-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-、或-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烯基)-。在一些实施例中，A是-N(R^C)-。在一些实施例中，A是-N(R^C)-，并且R^C和R^D独立地是氢或烷基。在一些实施例中，A是-NH-。在一些实施例中，A是-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-、其中亚烷基被R^1取代。在一些实施例中，A是-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-、并且R^1是烷基(例如甲基)。在一些实施例中，A是-NHC(O)C(CH_3)$_2$-。在一些实施例中，A是-N(R^C)C(O)(亚甲基)-，并且R^1是烷基(例如甲基)。在一些实施例中，A是-NHC(O)CH(CH_3)-。在一些实施例中，A是-NHC(O)C(CH_3)-。

[0228] 在一些实施例中，对于式(I)或(I-a)，L^1是键、烷基、或杂烷基。在一些实施例中，L^1是键或烷基。在一些实施例中，L^1是键。在一些实施例中，L^1是烷基。在一些实施例中，L^1是C_1-C_6烷基。在一些实施例中，L^1是-CH_2-、-CH(CH_3)-、-$CH_2CH_2CH_2$或-CH_2CH_2-。在一些实施例中，L^1是-CH_2-或-CH_2CH_2-。

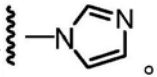
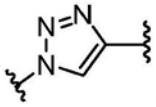
[0229] 在一些实施例中，对于式(I)或(I-a)，L^3是键、烷基、或杂烷基。在一些实施例中，L^3是键。在一些实施例中，L^3是烷基。在一些实施例中，L^3是C_1-C_{12}烷基。在一些实施例中，L^3是C_1-C_6烷基。在一些实施例中，L^3是-CH_2-。在一些实施例中，L^3是杂烷基。在一些实施例中，L^3是任选地被一个或多个R^2取代(例如氧代)的C_1-C_{12}杂烷基。在一些实施例中，L^3是任选地被一个或多个R^2取代(例如氧代)的C_1-C_6杂烷基。在一些实施例中，L^3是-C(O)OCH_2-、-CH_2(OCH_2CH_2)$_2$-、-CH_2(OCH_2CH_2)$_3$-、CH_2CH_2O-、或-CH_2O-。在一些实施例中，L^3是-CH_2O-。

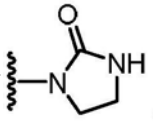
[0230] 在一些实施例中，对于式(I)或(I-a)，M是不存在、烷基、杂烷基、芳基、或杂芳基。在一些实施例中，M是杂烷基、芳基、或杂芳基。在一些实施例中，M是不存在。在一些实施例中，M是烷基(例如C_1-C_6烷基)。在一些实施例中，M是-CH_2-。在一些实施例中，M是杂烷基(例如C_1-C_6杂烷基)。在一些实施例中，M是(-OCH_2CH_2-)z，其中z是选自从1至10的整数。在一些实施例中，z是选自从1至5的整数。在一些实施例中，M是-OCH_2CH_2-、(-OCH_2CH_2-)$_2$、(-OCH_2CH_2-)$_3$、(-OCH_2CH_2-)$_4$或(-OCH_2CH_2-)$_5$。在一些实施例中，M是-OCH_2CH_2-、(-OCH_2CH_2-)$_2$、(-OCH_2CH_2-)$_3$或(-OCH_2CH_2-)$_4$。在一些实施例中，M是(-OCH_2CH_2-)$_3$。在一些实施例中，M是芳基。在一些实施例中，M是苯基。在一些实施例中，M是未取代的苯基。在一些实施例中，M是

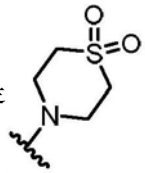
。在一些实施例中，M是并R^7（例如1个R^7）取代的苯基。在一些实施例中，M是

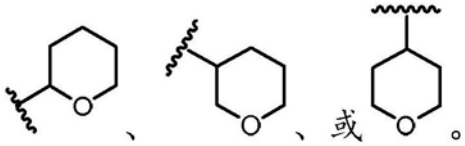


。在一些实施例中，R^7是CF_3。

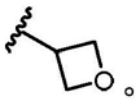
[0231] 在一些实施例中，对于式(I)或(I-a)，P是不存在、杂环基、或杂芳基。在一些实施例中，P是不存在。在一些实施例中，对于式(I)和(I-a)，P是三环的、二环的或单环的杂芳基。在一些实施例中，P是单环的杂芳基。在一些实施例中，P是含氮杂芳基。在一些实施例中，P是单环的含氮杂芳基。在一些实施例中，P是5元杂芳基。在一些实施例中，P是5元含氮杂芳基。在一些实施例中，P是四唑基、咪唑基、吡唑基或三唑基、吡咯基、噁唑基或噻唑基。在一些实施例中，P是四唑基、咪唑基、吡唑基或三唑基，或吡咯基。在一些实施例中，P是咪唑基。在一些实施例中，P是。在一些实施例中，P是三唑基。在一些实施例中，P是1,2,3-三唑基。在一些实施例中，P是。

[0232] 在一些实施例中，P是杂环基。在一些实施例中，P是5元杂环基或6元杂环基。在一些实施例中，P是咪唑啉酮。在一些实施例中，P是。在一些实施例中，P是硫代吗啉基-1,1-二氧化物。

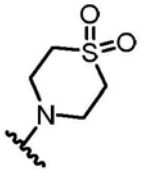
[0233] 在一些实施例中，P是。

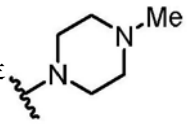
[0234] 在一些实施例中，对于式(I)或(I-a)，Z是烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基。在一些实施例中，Z是杂环基。在一些实施例中，Z为单环或双环杂环基。在一些实施例中，Z是含氧杂环基。在一些实施例中，Z是4元杂环基，5元杂环基或6元杂环基。在一些实施例中，Z是6元杂环基。在一些实施例中，Z是6元含氧杂环基。在一些实施例中，Z是四氢吡喃基。在一些实施例中，Z是

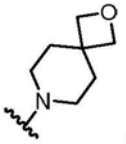
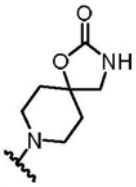
。在一些实施例中，Z是4元含氧杂环基。在一些

[0235] 实施例中，Z是。

[0236] 在一些实施例中，Z是二环含氧杂环基。在一些实施例中，Z是邻苯二甲酸酐。在一些实施例中，Z是含硫杂环基。在一些实施例中，Z是6元含硫杂环基。在一些实施例中，Z是含有氮原子和硫原子的6元杂环基。在一些实施例中，Z是硫代吗啉基-1,1-二氧化物。在一些

实施例中，Z是。在一些实施例中，Z是含氮杂环基。在一些实施例中，Z是6元含氮杂环基。

[0237] 在一些实施例中，Z是。

[0238] 在一些实施例中，Z是二环杂环基。在一些实施例中，Z是任选地被一个或多个R^5取代的二环含氮杂环基。在一些实施例中，Z是2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬基。在一些实施例中，Z是。在一些实施例中，Z是1-氧杂-3,8-二氮杂螺[4.5]癸-2-酮。在一些实施例中，Z是。

[0239] 在一些实施例中，对于式(I)或(I-a)，Z是芳基。在一些实施例中，Z是单环芳基。在一些实施例中，Z是苯基。在一些实施例中，Z是单取代的苯基(例如，被1个R^5取代)。在一些实施例中，Z是单取代的苯基，其中1个R^5是含氮基团。在一些实施例中，Z是单取代的苯基，其中1个R^5是NH_2。在一些实施例中，Z是单取代的苯基，其中1个R^5是含氧基团。在一些实施例中，Z是单取代的苯基，其中1个R^5是含氧杂烷基。在一些实施例中，Z是单取代的苯基，其中1个R^5是OCH_3。在一些实施例中，Z是单取代的苯基，其中1个R^5在邻位。在一些实施例中，Z是单取代的苯基，其中1个R^5在间位。在一些实施例中，Z是单取代的苯基，其中1个R^5在对位。

[0240] 在一些实施例中，对于式(I)或(I-a)，Z是烷基。在一些实施例中，Z是C_1-C_{12}烷基。在一些实施例中，Z是C_1-C_{10}烷基。在一些实施例中，Z是C_1-C_8烷基。在一些实施例中，Z是被1-5个R^5取代的C_1-C_8烷基。在一些实施例中，Z是被1个R^5取代的C_1-C_8烷基。在一些实施例中，Z是被1个R^5取代的C_1-C_8烷基，其中R^5是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、$-C(O)R^{B1}$、$-OC(O)R^{B1}$、或$-N(R^{C1})(R^{D1})$。在一些实施方案中，Z是被1个R^5取代的C_1-C_8烷基，其中R^5是$-OR^{A1}$或$-C(O)OR^{A1}$。在一些实施方案中，Z是被1个R^5取代的C_1-C_8烷基，其中R^5是$-OR^{A1}$或-C(O)OH。在一些实施例中，Z是$-CH_3$。

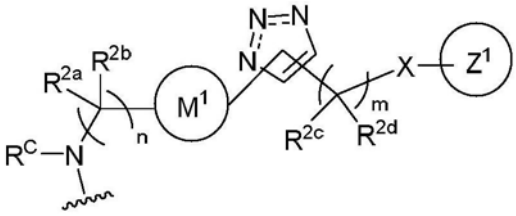
[0241] 在一些实施例中，对于式(I)或(I-a)，Z是杂烷基。在一些实施例中，Z是C_1-C_{12}杂烷基。在一些实施例中，Z是C_1-C_{10}杂烷基。在一些实施例中，Z是C_1-C_8杂烷基。在一些实施例中，Z是C_1-C_6杂烷基。在一些实施例中，Z是任选地被一个或多个R^5取代的含氮杂烷基。在一些实施例中，Z是被1-5个R^5取代的含氮和含硫杂烷基。在一些实施例中，Z是N-甲基-2-(甲基磺酰基)乙-1-胺基。

[0242] 在一些实施例中，Z是$-OR^A$或$-C(O)OR^A$。在一些实施例中，Z是$-OR^A$(例如-OH或$-OCH_3$)。在一些实施例中，Z是$-OCH_3$。在一些实施例中，Z是$-C(O)OR^A$(例如-C(O)OH)。

[0243] 在一些实施例中，Z是氢。

[0244] 在一些实施例中，L^2是键且P和L^3独立地不存在。在一些实施例中，L^2是键，P是杂芳基，L^3是键，Z是氢。在一些实施例中，P是杂芳基，L^3是杂烷基，并且Z是烷基。

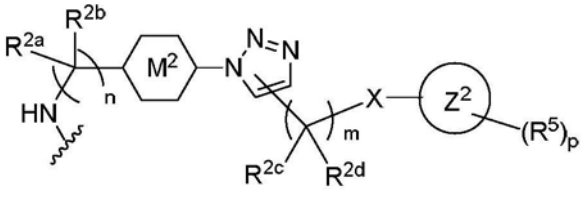
[0245] 在一些实施例中，具有式(I)的化合物是具有式(I-b)的化合物：

[0246] 

(I-b)，

[0247] 或其盐，其中环M^1是环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其各自任选被1-5个R^3取代；环Z^1是任选被1-5个R^5取代的环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地为氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤基、氰基、硝基、氨基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，或者R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}的每一个一起形成氧代基团；X是不存在、$N(R^{10})(R^{11})$、O或S；R^C是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其中烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基各自任选被1-6个R^6取代；每个R^3、R^5和R^6独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、叠氮基、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、$-C(O)R^{B1}$、$-OC(O)R^{B1}$、$-N(R^{C1})(R^{D1})$、$-N(R^{C1})C(O)R^{B1}$、$-C(O)N(R^{C1})$、SR^{E1}、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基；R^{10}和R^{11}各自独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、$-C(O)OR^{A1}$、$-C(O)R^{B1}$、$-OC(O)R^{B1}$、$-C(O)N(R^{C1})$、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基；每个R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}和R^{E1}独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基，其中烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基各自任选地被1-6个R^7取代；每个R^7独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、氧代、羟基、环烷基、或杂环基；每个m和n独立地为1、2、3、4、5或6；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。在一些实施例中，对于每个R^3和R^5，每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基任选地且独立地被卤素、氧代、氰基、环烷基或杂环基取代。

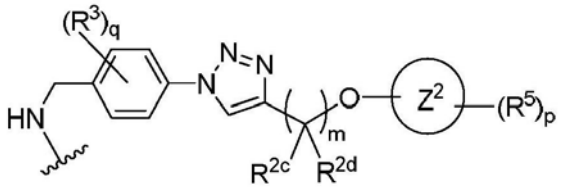
[0248] 在一些实施例中，具有式(I-b)的化合物是具有式(I-b-i)的化合物：

[0249] 

(I-b-i)，

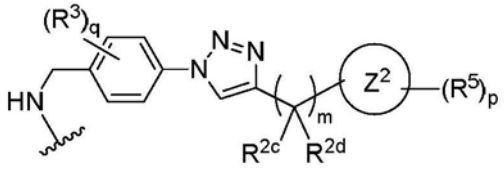
[0250] 或其药学上可接受的盐，其中环M^2是任选地被一个或多个R^3取代的芳基或杂芳基；环Z^2是环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基或杂烷基，或者R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}各自一起形成氧代基团；Z是不存在、O或S；每个R^3和R^5独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$或$-C(O)R^{B1}$，其中每个烷基和杂烷基任选地被卤素取代；或两个R^5一起形成与环Z^2融合的5-6元环；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；m和n各自独立地是1、2、3、4、5或6；p是0、1、2、3、4、5、或6；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

[0251] 在一些实施例中，具有式(I-b-i)的化合物是具有式(I-b-ii)的化合物：

[0252] 
(I-b-ii),

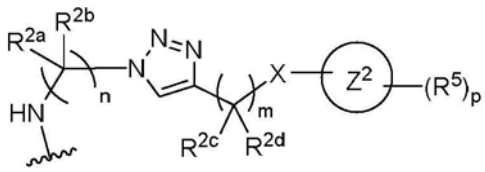
[0253] 或其药学上可接受的盐，其中环Z^2是环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基或杂烷基，或者R^{2c}和R^{2d}一起形成氧代基团；每个R^3和R^5独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$或$-C(O)R^{B1}$，其中每个烷基和杂烷基任选地被卤素取代；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；p和q各自独立地是0、1、2、3、4、5或6；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

[0254] 在一些实施例中，具有式(I)的化合物是具有式(I-c)的化合物：

[0255] 
(I-c),

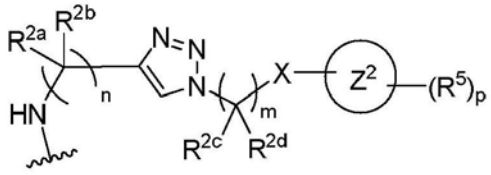
[0256] 或其药学上可接受的盐，其中环Z^2是环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基或杂烷基，或者R^{2c}和R^{2d}一起形成氧代基团；每个R^3和R^5独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$或$-C(O)R^{B1}$，其中每个烷基和杂烷基任选地被卤素取代；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；m是1、2、3、4、5或6；p和q各自独立地是0、1、2、3、4、5或6；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

[0257] 在一些实施例中，具有式(I)的化合物是具有式(I-d)的化合物：

[0258] 
(I-d),

[0259] 或其药学上可接受的盐，其中环Z^2是环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；Z是不存在、O或S；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基或杂烷基，或者R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}各自一起形成氧代基团；每个R^5独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$或$-C(O)R^{B1}$，其中每个烷基和杂烷基任选地被卤素取代；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；m和n各自独立地是1、2、3、4、5或6；p是0、1、2、3、4、5、或6；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

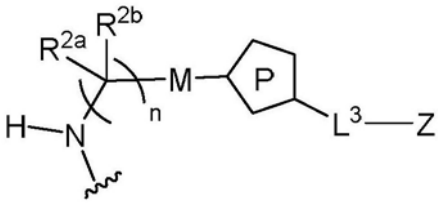
[0260] 在一些实施例中，具有式(I)的化合物是具有式(I-e)的化合物：

[0261] 
(I-e),

[0262] 或其药学上可接受的盐，其中环Z^2是环烷基、杂环基、芳基或杂芳基；Z是不存在、O或S；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基或杂烷基，或者R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}各自一起形成氧代基团；每个R^5独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、或$-C(O)R^{B1}$；每个R^{A1}

和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基;m和n各自独立地是1、2、3、4、5或6;p是0、1、2、3、4、5、或6;“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

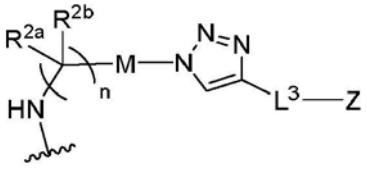
[0263] 在一些实施例中,具有式(I)的化合物是具有式(I-f)的化合物:

[0264] 

(I-f),

[0265] 或其药学上可接受的盐,其中M是任选地被一个或多个R^3取代的烷基;环P是任选被一个或多个R^4取代的杂芳基;L^3是任选地被一个或多个R^2取代的烷基或杂烷基;Z是烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基、其各自任选地被一个或多个R^5取代;R^{2a}和R^{2b}各自独立地是氢、烷基或杂烷基,或者R^{2a}和R^{2b}一起形成氧代基团;每个R^2、R^3、R^4和R^5独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、或$-C(O)R^{B1}$;每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基;n独立地是1、2、3、4、5或6;“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

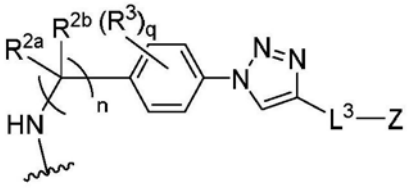
[0266] 在一些实施例中,具有式(I)的化合物是具有式(II)的化合物:

[0267] 

(II),

[0268] 或其药学上可接受的盐,其中M是键、烷基或芳基,其中烷基和芳基任选地被一个或多个R^3取代;L^3是任选地被一个或多个R^2取代的烷基或杂烷基;Z是氢、烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基或$-OR^A$,其中烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基和杂芳基任选地被一个或多个R^5取代;R^A是氢;R^{2a}和R^{2b}各自独立地是氢、烷基或杂烷基,或者R^{2a}和R^{2b}一起形成氧代基团;每个R^2、R^3和R^5独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、或$-C(O)R^{B1}$;每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基;n独立地是1、2、3、4、5或6;“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

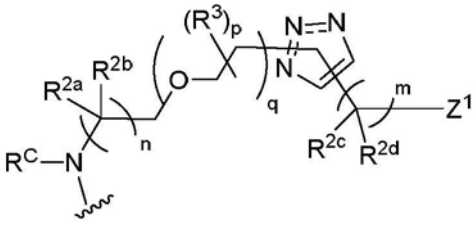
[0269] 在一些实施例中,具有式(II)的化合物是具有式(II-a)的化合物:

[0270] 

(II-a),

[0271] 或其药学上可接受的盐,其中L^3是烷基或杂烷基,其各自任选地被一个或多个R^2取代;Z是氢、烷基、杂烷基或$-OR^A$,其中烷基和杂烷基任选地被一个或多个R^5取代;R^{2a}和R^{2b}各自独立地是氢、烷基或杂烷基,或者R^{2a}和R^{2b}一起形成氧代基团;每个R^2、R^3和R^5独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、或$-C(O)R^{B1}$;R^A是氢;每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基;n独立地是1、2、3、4、5或6;“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

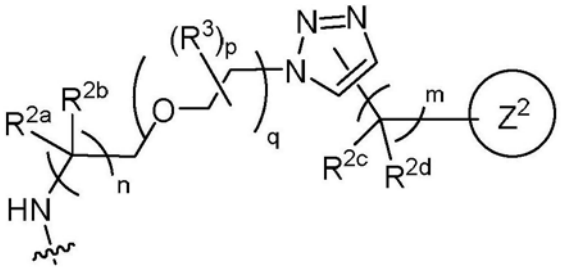
[0272] 在一些实施例中,具有式(I)的化合物是具有式(III)的化合物:

[0273] 

(III),

[0274] 或其药学上可接受的盐，其中Z^1是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其各自任选被1-5个R^5取代；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤基、氰基、硝基、氨基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基；或R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}一起形成氧代基团；R^C是氢、烷基、烯基、炔基或杂烷基，其中烷基、烯基、炔基或杂烷基各自任选地被1-6个R^6取代；R^3、R^5和R^6各自独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、或$-C(O)R^{B1}$；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；m和n各自独立地是1、2、3、4、5或6；q是从0至25的整数；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

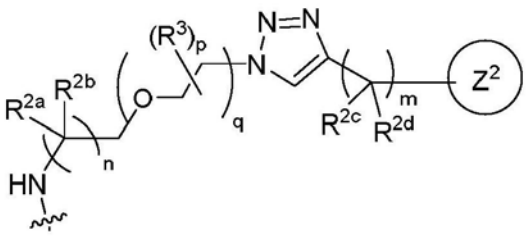
[0275] 在一些实施例中，具有式(III)的化合物是具有式(III-a)的化合物：

[0276] 

(III-a),

[0277] 或其药学上可接受的盐，其中环Z^2是环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其各自任选地被1-5个R^5取代；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基、杂烷基、卤基；或R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}一起形成氧代基团；R^3和R^5各自独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、或$-C(O)R^{B1}$；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；m和n各自独立地是1、2、3、4、5或6；o和p各自独立地是0、1、2、3、4或5；q是从0至25的整数；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

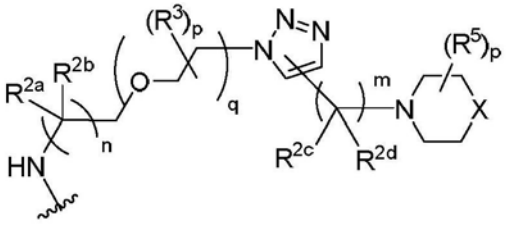
[0278] 在一些实施例中，具有式(III-a)的化合物是具有式(III-b)的化合物：

[0279] 

(III-b),

[0280] 或其药学上可接受的盐，其中环Z^2是环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其各自任选地被1-5个R^5取代；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基、杂烷基、卤基；或R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}一起形成氧代基团；R^3和R^5各自独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、$-OR^{A1}$、$-C(O)OR^{A1}$、或$-C(O)R^{B1}$；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；m和n各自独立地是1、2、3、4、5或6；o和p各自独立地是0、1、2、3、4或5；q是从0至25的整数；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

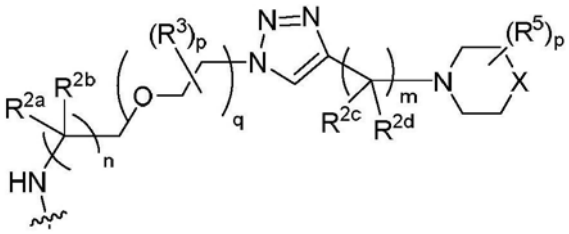
[0281] 在一些实施例中，具有式(III-a)的化合物是具有式(III-c)的化合物：

[0282] 

(III-c),

[0283] 或其药学上可接受的盐，其中X是C(R')(R")、N(R')或S(O)$_x$；R'和R"各自独立地是氢、烷基，卤素或环烷基；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基、杂烷基、或卤基；或R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}一起形成氧代基团；R^3和R^5各自独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、-OR^{A1}、-C(O)OR^{A1}、或-C(O)R^{B1}；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；m和n各自独立地是1、2、3、4、5或6；p是0、1、2、3、4、或5；q是从0至25的整数；x是0、1或2；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

[0284] 在一些实施例中，具有式(III-c)的化合物是具有式(III-d)的化合物：

[0285] 

(III-d),

[0286] 或其药学上可接受的盐，其中X是C(R')(R")、N(R')或S(O)$_x$；R'和R"各自独立地是氢、烷基，卤素或环烷基；R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢、烷基、杂烷基、或卤基；或R^{2a}和R^{2b}或R^{2c}和R^{2d}一起形成氧代基团；R^3和R^5各自独立地是烷基、杂烷基、卤素、氧代、-OR^{A1}、-C(O)OR^{A1}、或-C(O)R^{B1}；每个R^{A1}和R^{B1}独立地是氢、烷基、或杂烷基；m和n各自独立地是1、2、3、4、5或6；p是0、1、2、3、4、或5；q是从0至25的整数；x是0、1或2；“ ”是指与本文所述的连接基团或聚合物的连接。

[0287] 在一些实施例中，该化合物是具有式(I)的化合物。在一些实施例中，L^2是键且P和L^3独立地不存在。

[0288] 在一些实施例中，该化合物是具有式(I-a)的化合物。在式(II-a)的一些实施例中，L^2是键，P是杂芳基，L^3是键，Z是氢。在一些实施例中，P是杂芳基，L^3是杂烷基，并且Z是烷基。在一些实施例中，L^2是键且P和L^3独立地不存在。在一些实施例中，L^2是键，P是杂芳基，L^3是键，Z是氢。在一些实施例中，P是杂芳基，L^3是杂烷基，并且Z是烷基。

[0289] 在一些实施例中，该化合物是具有式(I-b)的化合物。在一些实施例中，P不存在，L^1是-$NHCH_2$，L^2是键，M是芳基(例如，苯基)，L^3是-CH_2O，并且Z是杂环基(例如，含氮杂环基，例如硫代吗啉基-1,1-二氧化物)。在一些实施例中，具有式(I-b)的化合物是化合物116。

[0290] 在式(I-b)的一些实施例中，P不存在，L^1是-$NHCH_2$，L^2是键，M不存在，L^3是键，并且Z是杂环基(例如，含氧杂环基，例如四氢吡喃基、四氢呋喃基、氧杂环丁烷或环氧乙烷基)。在一些实施例中，具有式(I-b)的化合物是化合物105。

[0291] 在一些实施例中，该化合物是具有式(I-b-i)的化合物。在式(I-b-i)的一些实施例中，R^{2a}和R^{2b}各自独立地是氢或CH_3，R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢，m是1或2，n是1，X是O，p是0，M^2是任选地被一个或多个R^3取代的苯基，R^3是-CF_3，并且Z^2是杂环基(例如，含氧杂环基，例如

四氢吡喃基、四氢呋喃基、氧杂环丁烷基或环氧乙烷基)。在一些实施例中,具有式(I-b-i)的化合物是化合物100、化合物106、化合物107、化合物108、化合物109或化合物111。

[0292] 在一些实施例中,该化合物是具有式(I-b-ii)的化合物。在式(I-b-ii)的一些实施例中,R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢,q是0,p是0,m是1,并且Z^2是杂环基(例如,含氧杂环基,例如,四氢吡喃基)。在一些实施例中,具有式(I-b-ii)的化合物是化合物100。

[0293] 在一些实施例中,该化合物是具有式(I-c)的化合物。在式(I-c)的一些实施例中,R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢,m是1,p是1,q是0,R^5是$-CH_3$,并且Z是杂环基(例如,含氮杂环基,例如哌嗪基)。在一些实施例中,具有式(I-c)的化合物是化合物113。

[0294] 在一些实施例中,该化合物是具有式(I-d)的化合物。在式(I-d)的一些实施例中,R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢,m是1,n是3,X是O,p是0,并且Z是杂环基(例如,含氧杂环基,例如,四氢吡喃基、四氢呋喃基、氧杂环丁烷基或环氧乙烷基)。在一些实施例中,具有式(I-d)的化合物是化合物110或化合物114。

[0295] 在一些实施例中,该化合物是具有式(I-f)的化合物。在式(I-f)的一些实施例中,R^{2a}和R^{2b}各自独立地是氢,n是1,M是$-CH_2-$,P是含氮杂芳基(例如,咪唑基),L^3是$-C(O)OCH_2-$,并且Z是CH_3。在一些实施例中,具有式(I-f)的化合物是化合物115。

[0296] 在一些实施例中,该化合物是具有式(II-a)的化合物。在式(II-a)的一些实施例中,R^{2a}和R^{2b}各自独立地是氢,n是1,q是0,L^3是$-CH_2(OCH_2CH_2)_2$,并且Z是$-OCH_3$。在一些实施例中,具有式(II-a)的化合物是化合物112。

[0297] 在式(II-a)的一些实施例中,R^{2a}和R^{2b}各自独立地是氢,n是1,L^3是键或$-CH_2$并且Z是氢或-OH。在一些实施例中,具有式(II-a)的化合物是化合物103或化合物104。

[0298] 在一些实施例中,该化合物是具有式(III)的化合物。在式(III)的一些实施例中,R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢,m是1,n是2,q是3,p是0,R^C是氢,并且Z^1是任选地被R^5(例如,$-N(CH_3)(CH_2CH_2)S(O)_2CH_3$)取代的杂烷基。在一些实施例中,具有式(III)的化合物是化合物120。

[0299] 在一些实施例中,该化合物是具有式(III-b)的化合物。在式(III-b)的一些实施例中,R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢,m是0,n是2,q是3,p是0,并且Z^2是被1个R^5(例如$-NH_2$)取代的芳基(例如,苯基)。在一些实施例中,具有式(III-b)的化合物是化合物102。

[0300] 在一些实施例中,该化合物是具有式(III-b)的化合物。在式(III-b)的一些实施例中,R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢,m是1,n是2,q是3,p是0,R^C是氢,并且Z^2是杂环基是杂环基(例如,含氮杂环基,例如含氮螺杂环基,例如2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬基)。在一些实施例中,具有式(III-b)的化合物是化合物121。

[0301] 在一些实施例中,该化合物是具有式(III-d)的化合物。在式(III-d)的一些实施例中,R^{2a}、R^{2b}、R^{2c}和R^{2d}各自独立地是氢,m是1,n是2,q是1、2、3或4,p是0,并且X是$S(O)_2$。在式(III-d)的一些实施例中,R^{2a}和R^{2b}各自独立地是氢,m是1,n是2,q是1、2、3或4,p是0,并且X是$S(O)_2$。在一些实施例中,具有式(III-d)的化合物是化合物101、化合物117、化合物118或化合物119。

[0302] 在一些实施例中,该化合物是具有式(I-b)、(I-d)、或(I-e)的化合物。在一些实施例中,该化合物是具有式(I-b)、(I-d)、或(II)的化合物。在一些实施例中,该化合物是具有式(I-b)、(I-d)、或(I-f)的化合物。在一些实施例中,该化合物是具有式(I-b)、(I-d)、或

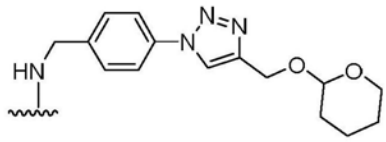
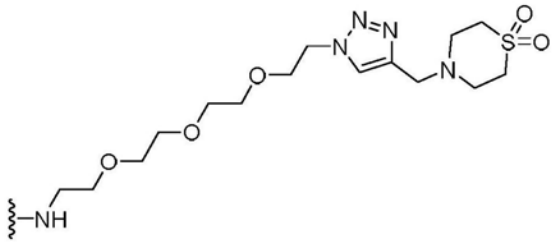
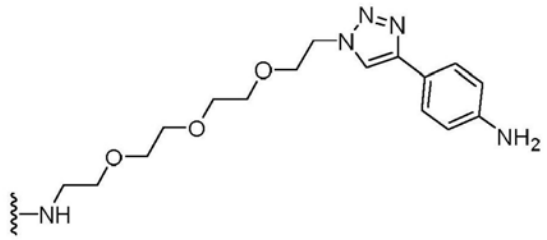
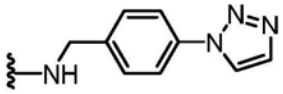
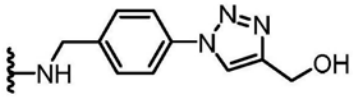
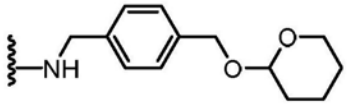
(III)的化合物。

[0303] 在一些实施例中,具有式(I)化合物不是WO 2012/112982、WO2012/167223、WO 2014/153126、WO 2016/019391、WO 2017/075630、US2012-0213708、US 2016-0030359或US 2016-0030360中公开的化合物。

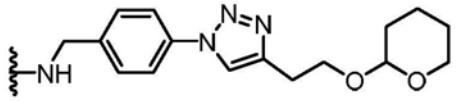
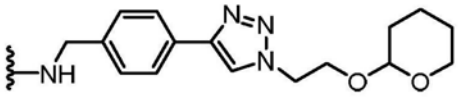
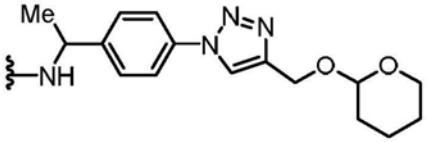
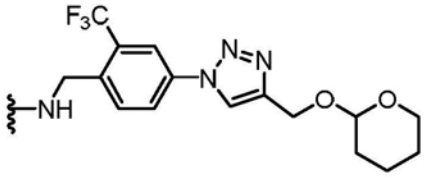
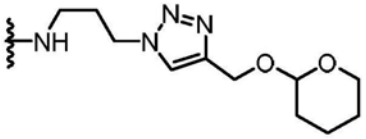
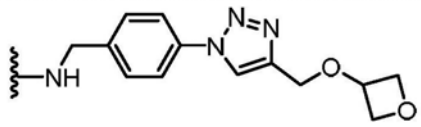
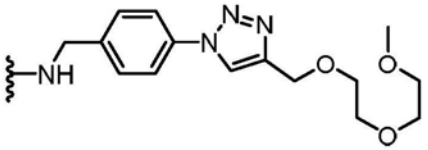
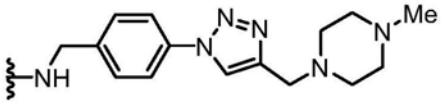
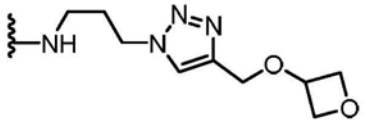
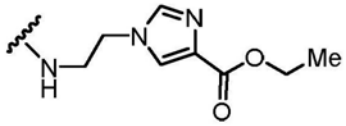
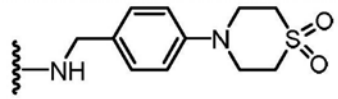
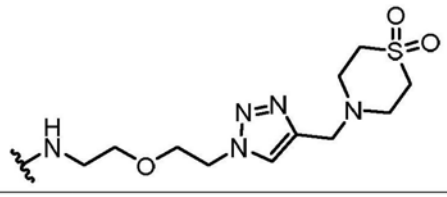
[0304] 在一些实施例中,具有式(I)化合物包含表2中所示的化合物或其药学上可接受的盐。在一些实施例中,本文所述的颗粒包含表2中所示的化合物或其药学上可接受的盐。

[0305] 表2:示例性化合物

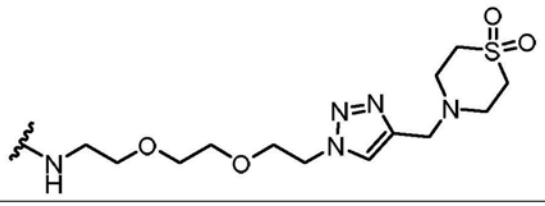
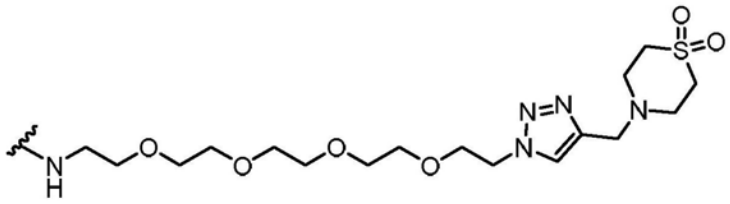
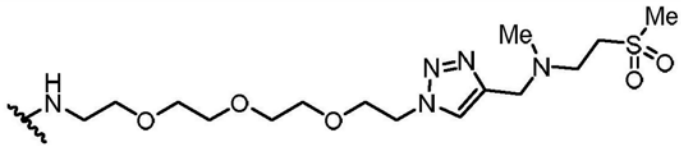
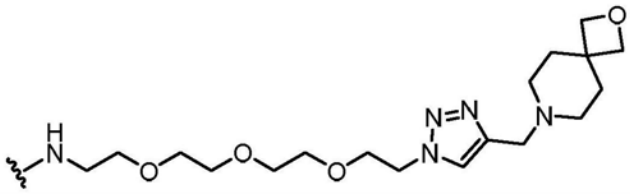
[0306]

化合物编号	结构
100	
101	
102	
103	
104	
105	

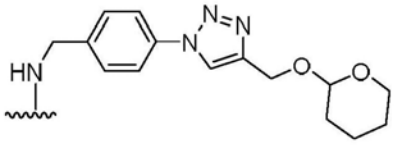
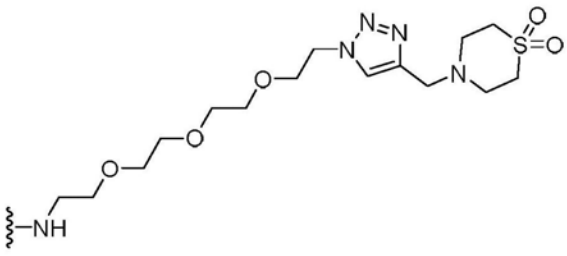
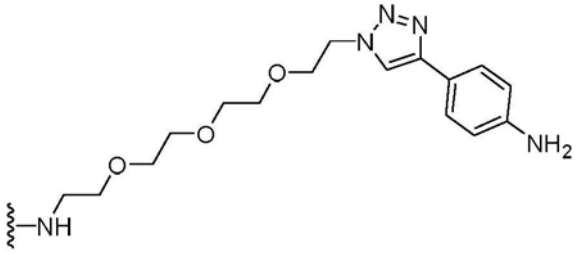
[0307]

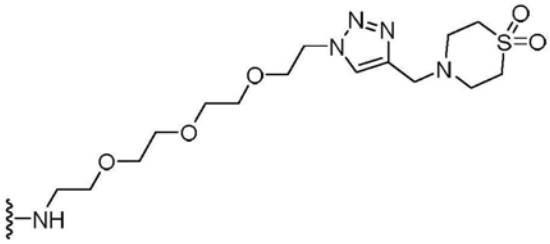
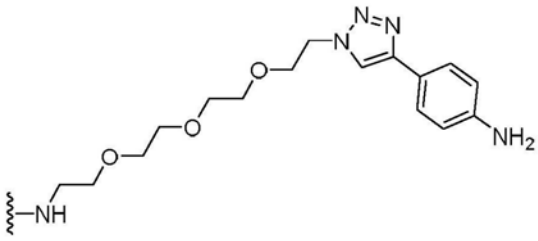
106	
107	
108	
109	
110	
111	
112	
113	
114	
115	
116	
117	

[0308]

118	
119	
120	
121	

[0309] 在一些实施例中，该化合物是具有式(I)的化合物(例如，式(I-a)、(I-b)、(I-c)、(I-d)、(I-e)、(I-f)、(II)、(II-a)、(III)、(III-a)、(III-b)、(III-c)或(III-d))或其药学上可接受的盐，并且选自：

[0310] 、、和或其药学上可接受的盐。

[0311] 在一些实施例中，本文所述的颗粒包含、的化合物，或其药学上可接受的盐。在一个实施例中，本文所述的颗粒包含与藻酸盐聚合物共价结

合的具有式(I)的化合物(例如,表2中所示的化合物)。在一个实施例中,本文所述的颗粒包含与藻酸盐聚合物中的一种或多种古洛糖醛酸和/或甘露糖醛酸单体(例如,通过酰胺键)共价结合的具有式(I)的化合物(例如,表2中所示的化合物,例如化合物101)。

[0312] 在一些实施例中,具有式(I)化合物(例如,表2中的化合物101)在至少2.0%并且小于9.0%氮、或2.0%至5%氮、3.0%至8.0%氮、5%至8.0%氮、4.0%至7.0%氮、5.0%至7.0%氮、或6.0%至7.0%氮或约6.8%氮的共轭密度(通过如下面实例中所述的氮百分比的燃烧分析测定)下共价连接至藻酸盐(例如,具有大约MW<75kDa,G:M比≥1.5的藻酸盐)。

[0313] 细胞

[0314] 本公开的颗粒可包含多种不同的细胞类型(例如,人细胞),包括上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、间充质干细胞、角质形成细胞、胰岛细胞和衍生自任何前述细胞类型的细胞。细胞可以源自干细胞或诱导的多能干细胞。示例性细胞类型包括WO 2017/075631中记载的细胞类型。在一些实施例中,细胞衍生自下表3中所示的细胞系。

[0315] 表3:示例性细胞系

[0316]

细胞系	细胞类型	胚层	商业来源
ARPE-19	上皮(视网膜)	外胚层	ATCC (CRL-2302)
BJ	成纤维细胞(包皮)	外胚层	ATCC (CRL-2522)
CCD-841-CoN	上皮(结肠)	内胚层	ATCC (CRL-1790)
HaCat	角质形成细胞	外胚层	Addexbio (T0020001)
HHSEC	内皮(肝窦)	内胚层	Sciencellonline.com (#5000)
Huv-EC-C	内皮(胚胎脐带)	中胚层	ATCC (CRL-1730)
MCF-10A	上皮(乳腺)	外胚层	ATCC (CRL-10317)
MRC-5	成纤维细胞(肺)	中胚层	ATCC (CCL-171)
MSC, 人	间质(骨髓)	中胚层	ATCC (PCS-500-012)
MSC, 小鼠	间质(骨髓)	中胚层	Cyagen (MU BMX-01001)

[0317]

WS-1	成纤维细胞(皮肤)	外胚层	ATCC (CRL-1502)
293F	上皮(胚胎肾)	中胚层	Thermo Fisher (R790007)

[0318] 在一些实施例中,颗粒不包含如本文所定义的任何胰岛细胞。在一个实施例中,包含在本公开内容的颗粒中的细胞(例如RPE细胞,MSFC,包括工程化的RPE细胞和MSFC)具有以下一种或多种特征:(i)不能以有效治疗用胰岛素可以治疗的糖尿病或其它疾病或病症的量产生胰岛素(例如,胰岛素A链、胰岛素B链或胰岛素原);(ii)不能以葡萄糖应答性方式产生胰岛素;或者(iii)不是诱导的被工程化为分化的产生胰岛素的胰腺β细胞的多能细胞。

[0319] 在一个实施例中，本文描述的颗粒包含多个细胞。在一个实施例中，所述多个细胞在被包封在本文所述的颗粒内之前呈细胞悬浮液的形式。悬浮液中的细胞可以采取单细胞的形式(例如，来自单层细胞培养物)，或以另一种形式提供，例如，设置在微载体(例如，珠或基质)上或作为细胞的三维聚集体(例如，细胞簇或球状体)。细胞悬浮液可包含多个细胞簇(例如，作为球状体)或微载体。

[0320] 在一些实施例中，已经将细胞工程化以产生用于预防或治疗例如WO2017/075631中描述的疾病、障碍或病症的治疗剂。治疗剂可以是任何生物物质，例如核酸(例如，核苷酸、DNA或RNA)、多肽、脂质、糖(例如，单糖、二糖、寡糖或多糖)、或小分子。示例性治疗剂包括WO 2017/075631中列出的药剂。

[0321] 在一些实施例中，治疗剂是肽或多肽(例如，蛋白质)，例如激素，酶，细胞因子(例如，促炎细胞因子或抗炎细胞因子)，生长因子，凝血因子，或脂蛋白。由工程化的细胞产生的肽或多肽(例如，蛋白质，例如激素，生长因子，凝血因子或凝结因子，抗体分子，酶，细胞因子，细胞因子受体或包括细胞因子或细胞因子受体的嵌合蛋白)可以具有天然存在的氨基酸序列，或者可以含有天然存在的序列的变体。变体可以是相对于参考天然存在的序列的天然存在的或非天然存在的氨基酸取代、突变、缺失或添加。天然存在的氨基酸序列可以是多态变体。天然存在的氨基酸序列可以是人或非人氨基酸序列。在一些实施例中，天然存在的氨基酸序列或其天然存在的变体是人序列。另外，可以以某种方式修饰用于本公开的肽或多肽(例如蛋白质)，例如通过化学或酶促修饰(例如，糖基化，磷酸化)。在一些实施例中，所述肽具有约2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、18、20、25、30、35、40、45、或50个氨基酸。在一些实施例中，蛋白质的平均分子量是5kD、10kD、25kD、50kD、100kD、150kD、200kD、250kD、500kD或更大。

[0322] 在一些实施例中，蛋白质是激素。示例性激素包括抗利尿激素(ADH)，催产素，生长激素(GH)，催乳素，生长激素释放激素(GHRH)，促甲状腺激素(TSH)，促甲状腺激素释放激素(TRH)，促肾上腺皮质激素(ACTH)，促卵泡激素(FSH)，黄体生成素(LH)，促黄体激素释放激素(LHRH)，甲状腺素，降钙素，甲状旁腺激素，醛固酮，皮质醇，肾上腺素，胰高血糖素，胰岛素，雌激素，黄体酮和睾酮。在一些实施例中，蛋白质是胰岛素(例如，胰岛素A链，胰岛素B链或胰岛素原)。在一些实施例中，蛋白质是生长激素，例如人生长激素(hGH)，重组人生长激素(rhGH)，牛生长激素，甲硫氨酸-人生长激素，去苯丙氨酸人生长激素和猪生长激素。

[0323] 在一些实施例中，蛋白质是生长因子，例如血管内皮生长因子(VEGF)，神经生长因子(NGF)，血小板衍生生长因子(PDGF)，成纤维细胞生长因子(FGF)，表皮生长因子(EGF)，转化生长因子(TGF)和胰岛素样生长因子-I和-II(IGF-I和IGF-II)。

[0324] 在一些实施例中，蛋白质是凝血因子或凝结因子，例如凝血因子或凝结因子。在一些实施例中，蛋白质是参与凝结(即血液从液体转化为固体或凝胶的过程)的蛋白质。示例性凝血因子和凝结因子包括因子I(例如，纤维蛋白原)，因子II(例如，凝血酶原)，因子III(例如，组织因子)，因子V(例如，加速素原，不稳定因子)，因子VI，因子VII(例如，稳定因子，转变素原)，因子VIII(例如，抗血友病因子A)，因子VIIIC，因子IX(例如，抗血友病因子B)，因子X(例如，Stuart-Prower因子)，因子XI(例如，血浆促凝血酶原激酶前体)，因子XII(例如，Hagerman因子)，因子XIII(例如，纤维蛋白稳定因子)，冯氏因子，前激肽释放酶，肝素辅因子II，高分子量激肽原(例如，Fitzgerald因子)，抗凝血酶III和纤连蛋白。在一些实施例

中，蛋白质是抗凝血因子，例如蛋白质C。

[0325] 在一些实施例中，蛋白质是抗体分子。如本文所用，术语“抗体分子”是指包含至少一个免疫球蛋白可变结构域序列的蛋白质，例如免疫球蛋白链或其片段。术语“抗体分子”包括，例如，单克隆抗体(包括具有免疫球蛋白Fc区的全长抗体)。在一个实施例中，抗体分子包含全长抗体或全长免疫球蛋白链。在一个实施例中，抗体分子包括全长抗体、或全长免疫球蛋白链的抗原结合或功能片段。在一个实施例中，抗体分子是单特异性抗体分子并结合单表位，例如具有多个免疫球蛋白可变结构域序列的单特异性抗体分子，每个免疫球蛋白可变结构域序列结合相同的表位。

[0326] 在一个实施例中，抗体分子是多特异性抗体分子，例如，其包含多个免疫球蛋白可变结构域序列，其中所述多个的第一免疫球蛋白可变结构域序列具有对第一表位的结合特异性，并且所述多个的第二免疫球蛋白可变结构域序列具有对第二表位的结合特异性。在一个实施例中，第一和第二表位在相同抗原(例如，相同的蛋白质(或多聚体蛋白的亚基))上。在一个实施例中，多特异性抗体分子包含第三、第四或第五免疫球蛋白可变结构域。在一个实施例中，多特异性抗体分子是双特异性抗体分子、三特异性抗体分子、或四特异性抗体分子。

[0327] 通过包封的工程细胞可以产生各种类型的抗体分子，包括任何类别的完整免疫球蛋白，其片段和至少含有抗体的抗原结合可变结构域的合成蛋白质。抗体分子可以是抗体，例如IgG抗体，例如IgG_1、IgG_2、IgG_3或IgG_4。抗体分子可以是抗原结合片段的形式，包括Fab片段、F(ab')2片段、单链可变区等。抗体可以是多克隆或单克隆(mAb)。单克隆抗体包括“嵌合的”抗体，其中重和/或轻链的一部分与对应的衍生自一个特定种类的抗体或属于一个特定抗体种类或亚类的序列相同或同源，而该一个或多个链的其余部分是与衍生自另一个种类的抗体的或属于另一个抗体种类或亚类的抗体连同此种抗体的片段中的对应序列相同或同源，只要它们特异性结合靶抗原和/或表现出所需的生物活性即可。在一些实施例中，抗体分子是单结构域抗体(例如，纳米抗体)。所述抗体也可以通过重组方法修饰，例如通过氨基酸的缺失、添加或取代，以增加抗体介导所需功能的功效。示例性抗体包括抗β-半乳糖苷酶、抗胶原蛋白、抗CD14、抗CD20、抗CD40、抗HER2、抗IL-1、抗IL-4、抗IL6、抗IL-13、抗IL17、抗IL18、抗IL-23、抗IL-28、抗IL-29、抗IL-33、抗EGFR、抗VEGF、抗CDF、抗鞭毛蛋白、抗-IFN-α、抗IFN-β、抗IFN-γ、抗甘露糖受体、抗VEGF、抗TLR1、抗TLR2、抗TLR3、抗TLR4、抗TLR5、抗TLR6、抗TLR9、抗PDF、抗PD1、抗PDL-1或抗神经生长因子抗体。在一些实施例中，抗体是抗神经生长因子抗体(例如，fulranumab、fasinumab、他尼珠(tanezumab))。

[0328] 在一些实施例中，蛋白质是细胞因子或细胞因子受体，或包括细胞因子或其受体的嵌合蛋白，包括例如肿瘤坏死因子α和β，它们的受体及其衍生物，肾素；脂蛋白；秋水仙碱；促肾上腺皮质激素；加压素；生长抑素；赖氨酸加压素；促胰酶素；亮丙瑞林；α-1抗胰蛋白酶；心房利钠因子；肺表面活性剂；除组织型纤溶酶原激活子(t-PA)之外的纤溶酶原激活子，例如尿激酶；蛙皮素；凝血酶；脑啡肽酶；RANTES(通常T细胞表达和分泌的在活化时受调节的)；人巨噬细胞炎症蛋白(MIP-1-α)；血清白蛋白，如人血清白蛋白；苗勒抑制物质；松弛素A链；松弛素B链；松弛素原；小鼠促性腺激素相关肽；绒毛膜促性腺激素；微生物蛋白，如β-内酰胺酶；DNA酶；抑制素；激活素；激素或生长因子的受体；整合素；蛋白质A或D；类风湿因子；血小板衍生生长因子(PDGF)；表皮生长因子(EGF)；转化生长因子(TGF)如TGF-α和

TGF-β,包括TGF-β1、TGF-β2、TGF-β3、TGF-β4或TGF-β5;胰岛素样生长因子-I和-II(IGF-I和IGF-II);des(1-3)-IGF-I(脑IGF-I),胰岛素样生长因子结合蛋白;CD蛋白,如CD-3、CD-4、CD-8和CD-19;促红细胞生成素;骨诱导因子;免疫毒素;干扰素如干扰素-α(例如,干扰素α2A)、干扰素-β、干扰素-γ、干扰素-λ和共有序列干扰素;集落刺激因子(CSF),例如M-CSF、GM-CSF和G-CSF;白介素(IL),例如IL-1至IL-10;超氧化物歧化酶;T细胞受体;表面膜蛋白;衰变加速因子;运输蛋白;归巢受体;地址素;生育抑制剂,如前列腺素;生育促进剂;调节蛋白;抗体(包括其片段)和嵌合蛋白,如免疫粘附素;这些化合物的前体、衍生物、前药和类似物,以及这些化合物的药学上可接受的盐,或它们的前体、衍生物,前药和类似物。合适的蛋白质或肽可以是天然的或重组的,包括例如融合蛋白。

[0329] 由本文描述的颗粒产生的多肽(例如蛋白质)的实例还包括CCL1、CCL2(MCP-1)、CCL3(MIP-1α)、CCL4(MIP-1β)、CCL5(RANTES)、CCL6、CCL7、CCL8、CCL9(CCL10)、CCL11、CCL12、CCL13、CCL14、CCL15、CCL16、CCL17、CCL18、CCL19、CCL20、CCL21、CCL22、CCL23、CCL24、CCL25、CCL26、CCL27、CCL28、CXCL1(KC)、CXCL2(SDF1a)、CXCL3、CXCL4、CXCL5、CXCL6、CXCL7、CXCL8(IL8)、CXCL9、CXCL10、CXCL11、CXCL12、CXCL13、CXCL14、CXCL15、CXCL16、CXCL17、CX3CL1、XCL1、XCL2、TNFA、TNFB(LTA)、TNFC(LTB)、TNFSF4、TNFSF5(CD40LG)、TNFSF6、TNFSF7、TNFSF8、TNFSF9、TNFSF10、TNFSF11、TNFSF13B、EDA、IL2、IL15、IL4、IL13、IL7、IL9、IL21、IL3、IL5、IL6、IL11、IL27、IL30、IL31、OSM、LIF、CNTF、CTF1、IL12a、IL12b、IL23、IL27、IL35、IL14、IL16、IL32、IL34、IL10、IL22、IL19、IL20、IL24、IL26、IL29、IFNL1、IFNL2、IFNL3、IL28、IFNA1、IFNA2、IFNA4、IFNA5、IFNA6、IFNA7、IFNA8、IFNA10、IFNA13、IFNA14、IFNA16、IFNA17、IFNA21、IFNB1、IFNK、IFNW1、IFNG、IL1A(IL1F1)、IL1B(IL1F2)、IL1Ra(IL1F3)、IL1F5(IL36RN)、IL1F6(IL36A)、IL1F7(IL37)、IL1F8(IL36B)、IL1F9(IL36G)、IL1F10(IL38)、IL33(IL1F11)、IL18(IL1G)、IL17、KITLG、IL25(IL17E)、CSF1(M-CSF)、CSF2(GM-CSF)、CSF3(G-CSF)、SPP1、TGFB1、TGFB2、TGFB3、CCL3L1、CCL3L2、CCL3L3、CCL4L1、CCL4L2、IL17B、IL17C、IL17D、IL17F、AIMP1(SCYE1)、MIF、Areg、BC096441、Bmp1、Bmp10、Bmp15、Bmp2、Bmp3、Bmp4、Bmp5、Bmp6、Bmp7、Bmp8a、Bmp8b、C1qtnf4、Ccl21a、Ccl27a、Cd70、Cer1、Cklf、Clcf1、Cmtm2a、Cmtm2b、Cmtm3、Cmtm4、Cmtm5、Cmtm6、Cmtm7、Cmtm8、Crlf1、Ctf2、Ebi3、Edn1、Fam3b、Fasl、Fgf2、Flt3l、Gdf10、Gdf11、Gdf15、Gdf2、Gdf3、Gdf5、Gdf6、Gdf7、Gdf9、Gm12597、Gm13271、Gm13275、Gm13276、Gm13280、Gm13283、Gm2564、Gpi1、Grem1、Grem2、Grn、Hmgb1、Ifna11、Ifna12、Ifna9、Ifnab、Ifne、Il17a、Il23a、Il25、Il31、Iltifb、Inhba、Lefty1、Lefty2、Mstn、Nampt、Ndp、Nodal、Pf4、Pglyrp1、Prl7d1、Scg2、Scgb3a1、Slurp1、Spp1、Thpo、Tnfsf10、Tnfsf11、Tnfsf12、Tnfsf13、Tnfsf13b、Tnfsf14、Tnfsf15、Tnfsf18、Tnfsf4、Tnfsf8、Tnfsf9、Tslp、Vegfa、Wnt1、Wnt2、Wnt5a、Wnt7a、Xcl1、肾上腺素、褪黑素、三碘甲状腺原氨酸、前列腺素、白三烯、前列环素、血栓素、胰岛淀粉样多肽、苗勒抑制因子或激素、脂联素、促肾上腺皮质激素、血管紧张素、血管加压素、精氨酸加压素、心钠素、脑利钠肽、降钙素、缩胆囊素、皮质抑素、脑啡肽、内皮素、促红细胞生成素、卵泡刺激素、甘丙肽、胃抑制多肽、胃泌素、食欲刺激素、胰高血糖素、胰高血糖素样肽-1、促性腺激素释放激素、铁调素、人绒毛膜促性腺激素、人胎盘催乳素、抑制素、生长调节素、瘦素、促脂解素、黑素细胞刺激素、胃动素、增食欲素、催产素、胰多肽、垂体腺苷酸环化酶激活肽、松弛素、肾素、促胰液素、生长抑素、血小板生成素、促甲状腺激素、促甲状腺激素释放激素、血管

活性肠肽、雄激素、α-葡萄糖苷酶(也称为酸性麦芽糖酶、糖原磷酸化酶、糖原脱支酶、磷酸果糖激酶、磷酸甘油酸激酶、磷酸甘油酸变位酶、乳酸脱氢酶、肉毒碱棕榈酰基转移酶、肉毒碱和肌腺苷酸脱氨酶。

[0330] 在一些实施例中,蛋白质是替代疗法或替代蛋白质。在一些实施例中,替代疗法或替代蛋白质是凝血因子或凝结因子,例如因子VIII(例如,包含天然存在的人因子VIII氨基酸序列或其变体)或因子IX(例如,包含天然发生的人因子IX氨基酸序列或其变体)。

[0331] 在一些实施例中,将细胞工程化以表达人因子VIII蛋白,例如重组因子VIII。在一些实施例中,重组因子VIII是B结构域缺失的重组因子VIII(FVIII-BDD)。在一些实施例中,细胞衍生自人RPE细胞系并且包含编码图2A中所示的FVIII-BDD氨基酸序列的外源核酸序列(SEQ ID NO:1)。

[0332] 在一些实施例中,将细胞工程化以表达FIX,例如野生型人F IX,例如图2B中所示的(SEQ ID NO:2)或其多态变体(例如,在SEQ ID NO:2的氨基酸位置148处丙氨酸取代苏氨酸)。在一些实施例中,将细胞工程化以表达野生型FIX蛋白的功能获得(GIF)性变体(FIX-GIF),其中GIF变体具有比相应的野生型FIX更高的比活性。在一些实施例中,细胞衍生自人RPE细胞系并且包含编码SEQ ID NO:2的外源核酸序列,除了在对应于SEQ ID NO:2的氨基酸位置338的位置处氨基酸取代精氨酸。在一些实施例中,在对应于SEQ ID NO:2的氨基酸位置338的位置处的取代氨基酸是丙氨酸、天冬酰胺、天冬氨酸、半胱氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、组氨酸、亮氨酸、赖氨酸或酪氨酸。在一些实施例中,由本文描述的颗粒中包含的细胞编码的FIX蛋白是FIX-padua蛋白,并且包含SEQ ID NO:36,基本上由SEQ ID NO:36组成或由SEQ ID NO:36组成(图17)。

[0333] 在一些实施例中,包封的细胞衍生自人RPE细胞系并且包含外源核酸序列,其包含与多肽的编码序列可有效地连接的启动子序列(例如,SEQ ID NO:26的核苷酸337-2069)。在实施例中,编码序列是图17中所示的密码子优化的FVIII-BDD编码序列(SEQ ID NO:9、10、11、12、13、14、15、16或17)或图17中所示的密码子优化的FIX-padua编码序列(SEQ ID NO:19、20或21)。在一些实施例中,包封的细胞衍生自人RPE细胞系,并包含启动子序列(例如SEQ ID NO:23或与SEQ ID NO:23至少95%、96%、97%、98%或99%相同的核苷酸序列),该启动子序列可操作地连接至核苷酸序列,该核苷酸序列编码选自由以下组成的组的氨基酸序列:SEQ ID NO:1、2、3、4、5、6、7、29、30、31、32、33、34、35和36。

[0334] 在一些实施例中,颗粒是二室水凝胶胶囊,其中内室由包含约2000万个细胞/ml至约4000万个细胞/ml的聚合物溶液形成,其中这些细胞衍生自ARPE-19细胞系,并包含SEQ ID NO:26的核苷酸337-2069,其可操作地连接于图17所示的密码子优化的FVIII-BDD编码序列。在实施例中,FVIII-BDD编码序列是SEQ ID NO:15。

[0335] 在一些实施例中,替代疗法或替代蛋白质是酶,例如α-半乳糖苷酶、α-L-艾杜糖醛酸酶(IDUA)或N-磺基葡糖胺磺基水解酶(SGSH)。在一些实施例中,替代疗法或替代蛋白质是酶,例如α-半乳糖苷酶A(例如,包含天然存在的人α-半乳糖苷酶A氨基酸序列或其变体)。在一些实施例中,替代疗法或替代蛋白质是细胞因子或抗体。

[0336] 在一些实施例中,治疗剂是糖,例如单糖、二糖、寡糖或多糖。在一些实施例中,糖包含三糖、四糖、五糖、六糖或七糖部分。在一些实施例中,糖包含线性单糖或环化单糖。在一些实施例中,糖包含葡萄糖、半乳糖、果糖、鼠李糖、甘露糖、阿拉伯糖、葡糖胺、半乳糖胺、

唾液酸、甘露糖胺、葡糖醛酸、半乳糖醛酸、甘露糖醛酸或古洛糖醛酸部分。在一些实施例中，糖与蛋白质连接(例如，N-连接的聚糖或O-连接的聚糖)。示例性的糖包括葡萄糖、半乳糖、果糖、甘露糖、鼠李糖、蔗糖、核糖、木糖、唾液酸、麦芽糖、直链淀粉、菊粉、低聚果糖、低聚半乳糖、甘露聚糖、凝集素、果胶、淀粉、纤维素、肝素、透明质酸、几丁质、支链淀粉或糖原。在一些实施例中，治疗剂是糖醇。

[0337] 在一些实施例中，治疗剂是脂质。脂质可以是疏水的或两亲的，并且可以形成三级结构，例如脂质体、囊泡或膜，或插入脂质体、囊泡或膜中。脂质可包含脂肪酸、甘油脂、甘油磷脂、甾醇脂质、异戊二烯脂质、鞘脂、糖脂、聚酮化合物或鞘脂。由包封的细胞产生的脂质的实例包括花生四烯乙醇胺、二十二碳六烯酸、前列腺素、白三烯、血栓素、类花生酸、甘油三酯、大麻素、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇、磷脂酸、神经酰胺、鞘磷脂、脑苷脂、神经节苷脂、雌激素、雄酮、睾酮、胆固醇、类胡萝卜素、醌、氢醌或泛醌。

[0338] 在一些实施例中，治疗剂是小分子。小分子可包括由细胞产生的天然产物。在一些实施例中，小分子具有差的可用性或不符合利平斯基(Lipinski)五规则(用于估计小分子是否可能是人体中的口服活性药物的一组指导；参见，例如，Lipinski,C.A.et al(2001)Adv Drug Deliv[药物递送进展]46:2-36)。示例性小分子天然产物包括抗细菌药物(例如，卡芦莫南，达托霉素、非达霉素、磷霉素、ispamicin、硫酸微霉素、米卡霉素、mupiocin、硫酸奈替米星、替考拉宁、噻烯霉素、利福霉素、红霉素、万古霉素)、抗寄生虫药物(例如、青蒿素、伊维菌素)、一种抗癌药物(如多柔比星、阿克拉霉素、氨基乙酰丙酸、阿加来必、高三尖杉酯碱(omacetaxine mepesuccinate)、紫杉醇、喷司他丁、培洛霉素、罗米地辛、trabectdin、放线菌素D、博来霉素、色霉素A、柔红霉素、甲酰四氢叶酸、新抑癌蛋白、链脲佐菌素、trabectedin、长春碱、长春新碱)、抗糖尿病药物(如伏格列波糖)、中枢神经系统药物(如左旋多巴、加兰他敏、zicontide)、他汀类药物(例如、美伐他汀)、抗真菌药物(例如、烟曲霉素、环孢菌素)、1-脱氧野尻霉素和茶碱、甾醇(胆固醇、雌激素、睾酮)。另外的小分子天然产物描述于Newman,D.J.And和Cragg,M.(2016)J Nat Prod[自然前药杂志]79:629-661和Butler,M.S.等人(2014)Nat Prod Rep[自然前药报道]31:1612-1661，其全部内容通过引用并入本文。

[0339] 在一些实施例中，将细胞工程化以合成非蛋白质或非肽小分子。例如，在一个实施例中，工程化细胞可以产生他汀类药物(例如，牛磺酸抑制素、普伐他汀、氟伐他汀或阿托伐他汀)。

[0340] 在一些实施例中，治疗剂是抗原(例如，病毒抗原、细菌抗原、真菌抗原、植物抗原、环境抗原或肿瘤抗原)。本领域技术人员认为抗原是免疫刺激性的，即，能够刺激免疫应答或对生物或其衍生的分子提供有效免疫。抗原可以是核酸、肽、蛋白质、糖、脂质或其组合。

[0341] 包含细胞的颗粒可以产生单一治疗剂或多个治疗剂。多个治疗剂可以相关或可以形成复合物。在一些实施例中，从包含细胞的颗粒分泌或释放的治疗剂是活性形式。在一些实施例中，治疗剂从包含无活性形式的细胞的颗粒中分泌或释放，例如作为前药。在后一种情况下，治疗剂可以并下游试剂(例如酶)活化。

[0342] 治疗方法

[0343] 本文描述了通过施用或植入包含第一室、第二室和具有式(I)的化合物(例如，如本文所述)的颗粒或包含其的组合物来预防或治疗受试者中的疾病、障碍或病症的方法。在

一些实施例中，本文所述的方法直接或间接地减少或减轻疾病、障碍或病症的至少一种症状。在一些实施例中，本文所述的方法预防或减缓疾病、障碍或病症的发作。在一些实施例中，该受试者是人。

[0344] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症影响身体系统，例如神经系统(例如，外周神经系统(PNS)或中枢神经系统(CNS))、血管系统、骨骼系统、呼吸系统、内分泌系统、淋巴系统、生殖系统或胃肠道。在一些实施例中，该疾病、障碍或病症影响身体的一部分，例如血液、眼睛、脑、皮肤、肺、胃、口、耳、腿、足、手、肝、心脏、肾、骨、胰腺、脾脏、大肠、小肠、脊髓、肌肉、卵巢、子宫、阴道或阴茎。

[0345] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是神经变性疾病、糖尿病、心脏病、自身免疫疾病、癌症、肝病、溶酶体贮积病、血液凝血障碍或凝结障碍、骨科病症、氨基酸代谢紊乱。

[0346] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是神经变性疾病。示例性神经变性疾病包括阿尔茨海默病、亨廷顿病、帕金森病(PD)、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、多发性硬化症(MS)和脑瘫(CP)、齿状核红核苍白球路易体萎缩症(dentatorubro-pallidoluysian atrophy，DRPLA)、神经元核内透明包涵体疾病(NIHID)、路易体痴呆、唐氏综合征、哈勒沃登-施帕茨病(Hallervorden-Spatz disease)、朊病毒病、嗜银颗粒痴呆、皮质基底节变性(cortocobasal degeneration)、拳击员痴呆、弥漫性神经原纤维缠结、Gerstmann-Straussler-Scheinker病、库贾氏病(Jakob-Creutzfeldt disease)、尼曼－皮克病(Niemann-Pick disease)3型、进行性核上性麻痹、亚急性硬化性全脑炎、脊髓小脑共济失调、皮克氏病(Pick's disease)和齿状核红核苍白球路易体萎缩症。

[0347] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是自身免疫疾病，例如硬皮病、多发性硬化、狼疮或过敏。

[0348] 在一些实施例中，该疾病是肝脏疾病，例如乙型肝炎、丙型肝炎、肝硬化、NASH。

[0349] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是癌症。示例性癌症包括白血病，淋巴瘤、黑素瘤、肺癌、脑癌(例如、胶质母细胞瘤)、肉瘤、胰腺癌、肾癌、肝癌、睾丸癌、前列腺癌或子宫癌。

[0350] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是骨科病症。示例性骨科病症包括骨质疏松症、骨坏死、佩吉特病或骨折。

[0351] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是溶酶体贮积病。示例性溶酶体贮积病包括戈谢病(例如，I型、II型、III型)、泰-萨二氏病(Tay-Sachs disease)、法布里病(Fabry disease)、法伯病(Farber disease)、贺勒氏综合征(Hurler syndrome)(也称为黏多糖贮积症I型(MPS I))、亨特氏综合征(Hunter syndrome)、溶酶体酸性脂肪酶缺乏症、尼曼－皮克病(Niemann-Pick disease)、唾液酸贮积病(Salla disease)、沙费利波综合征(Sanfilippo syndrome)(也称为黏多糖贮积症IIIA型(MPS3A))、多种硫酸酯酶缺乏症、Maroteaux-Lamy综合征、异染性脑白质营养不良、克拉伯病(Krabbe disease)、施艾氏综合征(Scheie syndrome)、贺勒氏-施艾氏综合征(Hurler-Scheie syndrome)、黏多糖贮积症Ⅶ型(Sly syndrome)、透明质酸酶缺乏症、蓬佩病(Pompe disease)、Danon病、神经节苷脂贮积病或莫奎欧氏综合征(Morquio syndrome)。

[0352] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是血液凝血障碍或凝结障碍。示例性血液凝血障碍或凝结障碍包括血友病(例如，血友病A或血友病B)、血管性血友病(Von Willebrand

disease)、血小板减少症、尿毒症、Bernard-Soulier综合征、因子XII缺乏、维生素K缺乏或先天性无纤维蛋白原血症。

[0353] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是氨基酸代谢障碍，例如苯丙酮尿症、酪氨酸血症(例如，1型或2型)、尿黑酸尿症、高胱氨酸尿症、高同型半胱氨酸血症、枫糖尿病。

[0354] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是脂肪酸代谢障碍，例如高脂血症、高胆固醇血症、半乳糖血症。

[0355] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是嘌呤或嘧啶代谢障碍，例如莱施-奈恩综合征(Lesch-Nyhan syndrome)。

[0356] 在一些实施例中，该疾病、障碍或病症是糖尿病(例如，I型或II型糖尿病)。

[0357] 本披露进一步包括用于鉴定患有或怀疑患有本文所述的疾病、障碍或病症的受试者的方法，并且基于这种鉴定，向受试者施用包含第一室、第二室和具有式(I)的化合物(例如，如本文所述)的颗粒或包含此类颗粒的组合物。在实施例中，该受试者是人。

[0358] 药物组合物、试剂盒以及施用

[0359] 本披露还包括含有本文所述颗粒的药物组合物，以及其试剂盒。

[0360] 在一些实施例中，药物组合物包含颗粒，该颗粒包含第一室、第二室和具有式(I)的化合物，以及药学上可接受的赋形剂。在一些实施例中，药物组合物中的颗粒包含细胞(例如人细胞，例如工程化的人细胞)和药学上可接受的赋形剂。在一些实施例中，颗粒以有效量提供在药物组合物中。在一些实施例中，该有效量是治疗有效量。在一些实施例中，该有效量是预防有效量。

[0361] 在此描述的药物组合物可以通过药理学领域中已知的任何方法来制备。通常，此类准备的方法包括以下步骤：使在颗粒(例如颗粒，即，“活性成分”)与一种载体和/或一种或多种其他辅助成分结合，并且然后如果必要和/或希望，使产品成形和/或包装成希望的单剂量单位或多剂量单位。

[0362] 药物组合物可以呈单一单位剂量和/或呈多个单一单位剂量进行制备、包装和/或批量出售。如在此所使用，“单位剂量”是包含活性成分的药物组合物的预定量(即，颗粒数量)的离散量。该活性成分的量通常等于将要向受试者施用的该活性成分的剂量和/或这样一种剂量的一个合宜部分，例如像这样一种剂量的一半或三分之一。

[0363] 本披露的药物组合物中该活性成分、该药学上可接受的赋形剂和/或任何另外的成分的相对量将取决于所治疗的受试者的身份、尺寸和/或情况并且进一步取决于施用该组合物的路径而变化。举例来说，该组合物可以包括在0.1％和100％(w/w)之间的活性成分。

[0364] 术语“药学上可接受赋形剂”是指不会破坏与其一起配制的化合物的药理学活性的一种无毒的载体、佐剂、稀释剂或媒介物。可用于制备本披露的药物组合物的药学上可接受的赋形剂是药物配制领域中公知的任何赋形剂，包括惰性稀释剂、分散剂和/或造粒剂、表面活性剂和/或乳化剂、崩解剂、粘合剂、防腐剂、缓冲液、润滑剂和/或油。在制备本披露的药物组合物中有用的药学上可接受的赋形剂包括但不限于：离子交换剂、氧化铝、硬脂酸铝、卵磷脂、血清蛋白(例如人血清白蛋白)、缓冲物质(例如磷酸盐)、甘氨酸、山梨酸、山梨酸钾、饱和植物脂肪酸的偏甘油酯混合物、水、盐或电解质(例如硫酸鱼精蛋白、磷酸氢二钠、磷酸氢钾、氯化钠、锌盐)、胶体硅、三硅酸镁、聚乙烯吡咯烷酮、基于纤维素的物质、聚乙

二醇、羧甲基纤维素钠、聚丙烯酸酯、蜡、聚乙烯-聚氧丙烯嵌段聚合物、聚乙二醇和羊毛脂。

[0365] 本文所述的颗粒可以口服、肠胃外(包括皮下、肌肉内和皮内)、局部、直肠、鼻腔、肿瘤内、鞘内、口腔、阴道或通过植入的储库施用。在一些实施例中,提供的颗粒或组合物可皮下施用或通过植入施用。

[0366] 在一些实施例中,本文所述的颗粒和相关组合物可以施用于或植入身体的某个区域中或其上,例如粘膜表面或体腔。示例性施用或植入部位包括腹膜腔(例如,小网膜囊)、脂肪组织、心脏、眼、肌肉、脾、淋巴结、食道、鼻、鼻窦、牙齿、牙龈、舌、口、喉、小肠、大肠、甲状腺、骨(如髋或关节)、乳房、软骨、阴道、子宫、输卵管、卵巢、阴茎、睾丸、血管、肝、肾、中枢神经系统(如脑、脊髓、神经)、或耳(如耳蜗)。

[0367] 在一些实施例中,将本文所述的颗粒和相关组合物施用于或植入除中枢神经系统(例如脑、脊髓、神经)之外的部位。在一些实施例中,将本文所述的颗粒和相关组合物施用于或植入除眼睛(例如视网膜)以外的部位。

[0368] 本披露的这些组合物的无菌可注射形式可以是水性或油性悬浮液。这些悬浮液可以按照本领域中已知的技术利用恰当的分散或湿润剂以及悬浮剂来配制。无菌可注射的制剂还可以是在非毒性的、胃肠外可接受的稀释剂或溶剂中的一种无菌可注射的溶液或悬浮液,例如作为在1.3-丁二醇中的一种溶液。可采用的可接受的载体以及溶剂有水、林格氏溶液、以及等渗氯化钠溶液。此外,常规采用无菌的固定油作为溶剂或悬浮介质。

[0369] 对于眼科用途,提供的药学上可接受的组合物可以配制成微粉化悬浮液或软膏如矿脂。

[0370] 虽然对在此提供的药物组合物的描述主要涉及适合用于向人施用的药物组合物,但熟练技术人员将理解此类组合物通常是适合用于向所有分类的动物施用。为了使上述组合物适合于对多种动物施用,将适合于对人类施用的药物组合物进行修饰是很好理解的,并且普通技术的兽医药理学家可以用普通实验设计和/或操作此类修饰。

[0371] 本文所述的颗粒和相关组合物可以配制成剂量单位形式,例如单一单位剂型,以便于施用和剂量均匀。可是要理解的是,本披露的组合物的总剂量和使用方案将通过主治医生在正确医学判断的范围内进行决定。对于任何特定患者或生物体的特定治疗有效剂量水平将取决于多种因素,包括正在治疗的疾病和病症的严重程度;所用特定活性成分的活性;所使用的特定组合物;受试者的年龄、体重、总体健康、性别和饮食;施用时间、施用途径和所用特定活性成分的排泄率;治疗的持续时间;与所用特定活性成分组合或巧合使用的药物;以及医学领域众所周知的因素。

[0372] 实现有效量所需要的治疗的精确量将例如取决于受试者的物种、年龄和一般情况;副作用或病症的严重性;一种或多种具体颗粒的身份;施用模式等在受试者与受试者之间变化。所需剂量可以递送一天三次,一天两次,一天一次,隔一天一次,每三天一次,一周一次,两周一次,三周一次或四周一次。在某些实施例中,可以使用多次施用(例如,两次、三次、四次、五次、六次、七次、八次、九次、十次、十一次、十二次、十三次、十四次或更多次施用)来递送希望的剂量。

[0373] 应理解,如本文所述的颗粒和相关组合物可与一种或多种另外的药学试剂组合施用。所述颗粒或组合物可以与另外的药学试剂组合施用,这些药学试剂可以提高化合物或组合物的生物利用率,减少和/或改善它们的新陈代谢,抑制它们的排泄和/或改善它们在

身体内的分布。也应当认识到的是，所使用的疗法对于相同疾病可以达到希望的效果，和/或其可能达到不同的效果。

[0374] 本披露还涵盖了试剂盒(例如，药物包)。本发明的试剂盒有用于预防和/或治疗本文所述的任何疾病、障碍或病症。提供的该试剂盒可以包括如本文所述的本发明的药物组合物或颗粒，以及容器(例如，小瓶、安瓿、瓶、注射器和/或分装包，或其它合适的容器)。在一些实施例中，提供的试剂盒可以进一步任选地包括第二个容器，其包括用于如本文所述的本发明的药物组合物或颗粒的稀释或悬浮的药用辅料。在一些实施例中，提供在该容器和该第二个容器中的如本文所述的本发明的药物组合物或可以进行组合以形成一个单位剂型。

[0375] 制造颗粒的方法

[0376] 本披露还包括制备本文所述颗粒的方法，例如包含第一室、第二室和具有式(I)的化合物的颗粒。在颗粒是水凝胶胶囊的一些实施例中，制备颗粒的方法包括使包含第一和第二聚合物溶液(例如，各自包含形成水凝胶的聚合物)的多个液滴与水性交联溶液接触。可以使用本领域已知的任何技术形成液滴。

[0377] 本文所述颗粒的每个室可包含未经修饰的聚合物，用具有式(I)的化合物修饰的聚合物，或其共混物。简而言之，在实施制备配置为双室水凝胶胶囊的颗粒的方法中，一定体积的第一聚合物溶液(例如，包含未经修饰的聚合物，用具有式(I)的化合物修饰的聚合物，或其共混物，并且任选地包含细胞)被加载到连接到同轴针的内腔的第一注射器中。然后可以将第一注射器连接到注射泵，该注射泵在容器上方垂直地定向，该容器包含交联剂、缓冲液和渗透压调节剂。一定体积的第二聚合物溶液(例如，包含未经修饰的聚合物，用具有式(I)的化合物修饰的聚合物，或其共混物，并且任选地包含细胞)被加载连接到同轴针的外腔的第二注射器中。然后，第二注射器可以连接到相对于含有交联溶液的容器水平定向的注射泵。然后可以将高压发电机连接到针的顶部和底部。然后，注射泵和发电机可用于通过注射器(其设定被确定为实现聚合物溶液的所需液滴速率)挤出第一和第二聚合物溶液进入交联溶液。技术人员可以容易地确定针腔尺寸、电压范围、流速、液滴速率和液滴距离的各种组合，以产生2室水凝胶胶囊组合物，其中大部分(例如，至少80％，85％，90％或更多)的胶囊在目标尺寸的10％范围内并且具有球状形状。在排出第一和第二体积的聚合物溶液后，可以使液滴在交联溶液中交联一段时间，例如约5分钟。

[0378] 用于制备毫胶囊(例如，1.5mm直径的毫胶囊)组合物的示例性工艺参数包括以下。同轴针以足以提供从针尖到溶液表面的下落距离的距离设置在交联溶液的表面上方。在实施例中，针尖与溶液表面之间的距离在1至5cm之间。在实施例中，第一和第二聚合物溶液通过针挤出，总流速为在0.05mL/min至5mL/min之间，或在0.05mL/min至2.5mL/min之间，或在0.05mL/min至约1mL/min之间，或在0.05mL/min至0.5mL/min之间，或在0.1mL/min至0.5mL/min之间。在实施例中，第一和第二聚合物溶液通过针挤出，总流速为约0.05mL/min、0.1mL/min、0.15mL/min、0.2mL/min、0.25mL/min、0.3mL/min、0.35mL/min、0.4mL/min、0.45mL/min、或0.5mL/min。在实施例中，第一和第二聚合物溶液通过针的流速基本相同。在实施例中，第一和第二聚合物溶液通过针的流速是不同的。

[0379] 在实施例中，仪器的电压在1kV至20kV之间，或在1至15kV之间，或在1kV至10kV之间，或在5kV至10kV之间。可以调节电压直到达到所需的液滴速率。在实施例中，仪器的液滴

速率在1滴/10秒至50滴/10秒之间，或在1滴/10秒至25滴/10秒之间。

[0380] 在实施例中，确定交联溶液表面上的非颗粒碎片的数量。然后可以收集已经落到交联容器底部的颗粒，例如通过将含有颗粒的交联溶液转移到单独的容器中，溶液表面上任何非颗粒碎片留在原始交联容器中。然后可以使除去的颗粒沉降，可以除去交联溶液，并且然后用缓冲液(例如HEPES缓冲液)洗涤颗粒一次或多次。在实施例中，通过显微镜检查所得颗粒组合物(例如，颗粒的制剂)的一个或多个等分试样以评估组合物的质量，例如颗粒缺陷和卫星颗粒的数量。

[0381] 在一些实施例中，交联溶液还包含工艺添加剂(例如，亲水的非离子表面活性剂)。工艺添加剂可降低交联溶液的表面张力。可作为本披露中的工艺添加剂的试剂包括聚山梨醇酯型表面活性剂、聚环氧乙烷(PEO)和聚环氧丙烷(PPO)的共聚物、聚(环氧乙烷)-聚(环氧丙烷)-聚(环氧乙烷)(PEO-PPO-PEO)三嵌段共聚物和非离子表面活性剂、例如Tween® 20、Tween® 80、Triton™X-100、IGEPAL® CA-630、泊洛沙姆188或泊洛沙姆407，或紧接着下面的示例性表面活性剂表中列出的具有基本相同的化学和物理性质的表面活性剂。

[0382]

示例性表面活性剂表			
品牌或通用名称	商业供应商	近似平均分子量(g/mol)	亲水性HLB[a]
Tween® 20[b]	密理博西格玛公司(Millipore Sigma)	1228	16.7
Tween® 80[c]	密理博西格玛公司(Millipore Sigma)	1310	15
Triton™ X-100[d]	密理博西格玛公司(Millipore Sigma)	625	13.4
IGEPAL® CA-630[e]	密理博西格玛公司(Millipore Sigma)	603	13
泊洛沙姆 188[f]	密理博西格玛公司(Millipore Sigma)	8400	>24
泊洛沙姆 407[g]	密理博西格玛公司(Millipore Sigma)	12,500	18-23

[0383]

[0384] [a]亲水-亲脂平衡

[0385] [b]化学名称和同义词：聚乙二醇脱水山梨糖醇单月桂酸酯、聚氧乙烯(20)脱水山梨

糖醇单月桂酸酯、聚山梨醇酯20、聚氧乙烯20脱水山梨糖醇单十二烷酸酯

[0386] [c]化学名称和同义词:聚乙二醇脱水山梨糖醇单油酸酯、聚氧乙烯(20)脱水山梨糖醇单油酸酯、聚山梨醇酯80、(x)-脱水山梨糖醇单-9-十八碳烯酸酯聚(氧基-1,2-乙二基)

[0387] [d]化学名称和同义词:4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯基-聚乙二醇、t-辛基苯氧基聚乙氧基乙醇、聚乙二醇叔-辛基苯基醚;辛基酚乙氧基化物、辛基酚环氧乙烷缩合物

[0388] [e]化学名称和同义词:辛基苯氧基聚乙氧基乙醇、辛基苯氧基聚(乙烯氧基)乙醇,支链

[0389] [f]化学名称:聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)

[0390] [g]化学名称:聚(乙二醇)-嵌段-聚(丙二醇)-嵌段-聚(乙二醇)

[0391] 在一些实施例中,工艺添加剂是非离子表面活性剂。在实施例中,工艺添加剂包含一种以上的表面活性剂,例如一种以上的亲水性表面活性剂。在一些实施例中,工艺添加剂不含Tween® 20(聚山梨醇酯20)或Triton™X-100。在实施例中,工艺添加剂是IGEPAL®CA-630(聚乙二醇脱水山梨糖醇单油酸酯)。在一些实施例中,加工添加剂是泊洛沙姆188。

[0392] 在一些实施例中,工艺添加剂(例如表面活性剂)以至少0.0001%或更高的浓度存在于交联溶液中。在一些实施例中,交联溶液包含至少0.001%、0.01%或0.1%的工艺添加剂。在一些实施例中,工艺添加剂以选自约0.001%至约0.1%、约0.005%至约0.05%、约0.005%至约0.01%、和约0.01%至约0.5%的浓度存在。在实施例中,工艺添加剂是表面活性剂并且以低于表面活性剂的临界胶束浓度的浓度存在。

[0393] 在一些实施例中,交联剂包含单一类型的二价阳离子或不同类型的混合物,例如Ba^{2+}、Ca^{2+}、Sr^{2+}中的一种或多种。在一些实施例中,交联剂是$BaCl_2$,例如浓度为1mM至100mM或7.5mM至20mM。在一些实施例中,交联剂是$CaCl_2$,例如浓度为50mM至100mM。在一些实施例中,交联剂是$SrCl_2$,例如浓度为37.5mM至100mM。在一些实施例中,交联剂是$BaCl_2$(例如,5mM至20mM)和$CaCl_2$(例如,37.5mM至12.5mM)的混合物或$BaCl_2$(例如,5mM至20mM)和$SrCl_2$(例如,37.5mM至12.5mM)的混合物。

[0394] 在一些实施例中,交联剂是$SrCl_2$,并且工艺添加剂是浓度小于0.1%例如约0.005%至0.05%、约0.005%至约0.01%的Tween®80(或在示例性表面活性剂表中列出的具有基本相同的化学和物理性质的表面活性剂)。在一些实施例中,$SrCl_2$的浓度为约50mM。在一些实施例中,交联剂是$SrCl_2$,并且工艺添加剂是浓度为1%的泊洛沙姆188。

[0395] 选择水性交联溶液中缓冲液的类型和浓度以使溶液pH保持在大约中性,例如约6.5至约7.5,约7.0至约7.5,或约7.0。在实施例中,缓冲液与待包封在颗粒中的生物材料例如细胞相容。在一些实施例中,水性交联溶液中的缓冲液包含HEPES(4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸)。

[0396] 选择水性交联溶液中的渗透压调节剂以将溶液渗透压保持在与聚合物溶液的渗透压(在一些实施例中包含细胞悬浮液)类似的值,例如具有可达20%、10%或5%更高或更低方差渗透压。在一些实施例中,渗透压剂是浓度为0.1M至0.3M的甘露醇。

[0397] 在一些实施例中,交联溶液包含25mM HEPES缓冲液、20mM $BaCl_2$、0.2M甘露醇和0.01%泊洛沙姆188。

[0398] 在一些实施例中，交联溶液包含50mM氯化锶六水合物，0.165M甘露醇，25mM HEPES和0.01％表面活性剂(其具有在吐温80的示例性表面活性剂表中列出的基本相同的化学和物理性质)。

[0399] 在实施例中，工艺添加剂是泊洛沙姆188，其在洗涤步骤后以可检测的量存在于颗粒组合物(例如，颗粒的制剂)中。泊洛沙姆188可以通过本领域已知的任何技术检测，例如，通过硫酸钠沉淀将颗粒部分或完全溶解在组合物的等分试样中，并通过LC/MS分析上清液。

[0400] 交联溶液的表面张力的降低可以通过本领域已知的任何方法评估，例如，通过使用接触角测角仪或张力计，例如通过挂环法(du Nouy ring method)(参见，例如，Davarci等人(2017)Food Hydrocolloids[食品亲水胶体]62:119-127)。

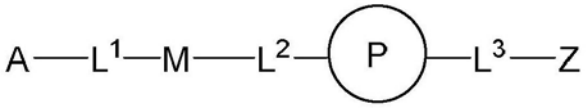
[0401] 列举的示例性实施例

[0402] 1.一种颗粒，该颗粒包含：

[0403] a)第一室；

[0404] b)第二室；以及

[0405] c)具有式(I-a)的化合物：

[0406] 

(I-a)，

[0407] 或者其药学上可接受的盐，其中：

[0408] A是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基、-O-、-C(O)O-、-C(O)-、-OC(O)-、-N(R^C)-、-N(R^C)C(O)-、-C(O)N(R^C)-、-N(R^C)N(R^D)-、-NCN-、-N(R^C)C(O)(C_1-C_6-亚烷基)-、-N(R^C)C(O)(C_2-C_6-亚烯基)-、-C(=N(R^C)(R^D))O-、-S-、-S(O)$_x$-、-OS(O)$_x$-、-N(R^C)S(O)$_x$-、-S(O)$_x$N(R^C)-、-P(R^F)$_y$-、-Si(OR^A)$_2$-、-Si(R^G)(OR^A)-、-B(OR^A)-、或金属，其中每一个任选地与连接基团(例如，本文所述的连接基团)连接并且任选地被一个或多个R^1取代；

[0409] L^1和L^3各自独立地是键、烷基或杂烷基，其中每个烷基和杂烷基任选被一个或多个R^2取代；

[0410] L^2是键；

[0411] M是不存在、烷基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基或杂芳基，其各自任选地被一个或多个R^3取代；

[0412] P是任选被一个或多个R^4取代的杂芳基；

[0413] Z是烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基、其各自任选地被一个或多个R^5取代；

[0414] 每个R^A、R^B、R^C、R^D、R^E、R^F和R^G独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、叠氮基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或多个R^6取代；

[0415] 或R^C和R^D与它们所连接的氮原子一起形成任选地被一个或多个R^6取代的环(例如5-7元环)；

[0416] 每个R^1、R^2、R^3、R^4、R^5和R^6独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、叠氮基、氧代、-OR^{A1}、-C(O)OR^{A1}、-C(O)R^{B1}、-OC(O)R^{B1}、-N(R^{C1})(R^{D1})、-N(R^{C1})C(O)R^{B1}、-C(O)N(R^{C1})、SR^{E1}、S

(O)$_x$R^{E1}、-OS(O)$_x$R^{E1}、-N(R^{C1})S(O)$_x$R^{E1}、-S(O)$_x$N(R^{C1})(R^{D1})、-P(R^{F1})$_y$、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、和杂芳基任选地被一个或多个R^{7}取代；

[0417] 每个R^{A1}、R^{B1}、R^{C1}、R^{D1}、R^{E1}和R^{F1}独立地是氢、烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、或杂芳基，其中每个烷基、烯基、炔基、杂烷基、环烷基、杂环基、芳基、杂芳基任选地被一个或多个R^{7}取代；

[0418] 每个R^{7}独立地是烷基、烯基、炔基、杂烷基、卤素、氰基、氧代、羟基、环烷基、或杂环基；

[0419] x是1或2；并且

[0420] y是2、3或4。

[0421] 2.如实施例1的所述颗粒，其中该第一室被该第二室围绕。

[0422] 3.如实施例1-2中任一项所述的颗粒，其中该第一室设置在该第二室内。

[0423] 4.如实施例1-3中任一项所述的颗粒，其中该第二室围绕该第一室形成屏障。

[0424] 5.如实施例1-4中任一项所述的颗粒，其中该第二室的总体积比该第一室的体积大例如1.5x、2x、3x或5x。

[0425] 6.如实施例1-4中任一项所述的颗粒，其中该第二室的微分体积比该第一室的体积大例如1.5x、2x、3x或5x。

[0426] 7.如实施例1-4中任一项所述的颗粒，其中该第二室的总体积比该第一室的体积大约1％、2％、5％、7.5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、或75％。

[0427] 8.如实施例1-4中任一项所述的颗粒，其中该第二室的微分体积比该第一室的体积大约1％、2％、5％、7.5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、或75％。

[0428] 9.如实施例1-4中任一项所述的颗粒，其中该第二室的微分体积比该第一室的体积小例如1.5x、2x、3x或5x。

[0429] 10.如实施例1-4中任一项所述的颗粒，其中该第二室的总体积比该第一室的体积小约1％、2％、5％、7.5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、或75％。

[0430] 11.如实施例1-4中任一项所述的颗粒，其中该第二室的微分体积比该第一室的体积小约1％、2％、5％、7.5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、或75％。

[0431] 12.如实施例1所述的颗粒，该颗粒包含选自以下的性质：

[0432] a)该第一室包含具有式(I-a)的化合物；

[0433] b)该第二室包含具有式(I-a)的化合物；

[0434] c)具有式(I-a)的化合物设置在该颗粒的外表面上；和/或

[0435] d)该颗粒包含该第一和该第二室之间的界面，并且具有式(I-a)的化合物设置在该界面处。

[0436] 13.如实施例12所述的颗粒，该颗粒包含性质a。

[0437] 14.如实施例12-13中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质b。

[0438] 15.如实施例12-14中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质c。

[0439] 16.如实施例12-15中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质d。

[0440] 17.如实施例1所述的颗粒，其中该第一室或该第二室基本上不含具有式(I-a)的化合物。

[0441] 18.如实施例1所述的颗粒，其中该颗粒的外表面基本上不含具有式(I-a)的化合物。

[0442] 19.如实施例1所述的颗粒，该颗粒包含选自以下的性质：

[0443] a)该第一室基本上不含具有式(I-a)的化合物；

[0444] b)该第二室基本上不含具有式(I-a)的化合物；

[0445] c)该颗粒的外表面基本上不含具有式(I-a)的化合物；或

[0446] d)该颗粒包含该第一室和该第二室之间的界面，并且该界面基本上不含具有式(I-a)的化合物。

[0447] 20.如实施例19所述的颗粒，该颗粒包含性质a。

[0448] 21.如实施例19-20中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质b。

[0449] 22.如实施例19-21中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质c。

[0450] 23.如实施例19-22中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质d。

[0451] 24.如实施例19所述的颗粒，该颗粒包含性质a和b。

[0452] 25.如实施例1-24中任一项所述的颗粒，其中该颗粒具有在20纳米至10毫米之间的最大线性尺寸(LLD)，例如直径。

[0453] 26.如实施例1-25中任一项所述的颗粒，其中该颗粒具有在500纳米至10毫米之间的最大线性尺寸(LLD)，例如直径。

[0454] 27.如实施例1-26中任一项所述的颗粒，其中该颗粒具有在1毫米至5毫米之间、例如在1毫米至4毫米之间、在1毫米至3毫米之间、在1毫米至2毫米之间、在约1.5毫米至2毫米之间、或约1.5毫米的最大线性尺寸(LLD)，例如直径。

[0455] 28.如实施例1-27中任一项所述的颗粒，其中该颗粒被配置为水凝胶胶囊，其中该第一室被该第二室围绕。

[0456] 29.如实施例28所述的颗粒，其中该第二室的厚度选自由以下组成的组：

[0457] (a)1纳米和1毫米；

[0458] (b)100纳米和1毫米；以及

[0459] (c)500纳米和500微米。

[0460] 30.如实施例29所述的颗粒，其中该第二室的厚度为该颗粒直径的至少约2.5％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、50％、60％、70％或80％。

[0461] 31.如实施例1-30中任一项所述的颗粒，其中该颗粒包含细胞。

[0462] 32.如实施例1-31中任一项所述的颗粒，其中该第一室包含细胞。

[0463] 33.如实施例1-32中任一项所述的颗粒，其中该第二室包含细胞。

[0464] 34.如实施例1-33中任一项所述的颗粒，其中该第一室包含细胞，并且该第二室不包含细胞。

[0465] 35.如实施例1-34中任一项所述的颗粒，其中该第一室包含细胞，并且该第二室包含细胞。

[0466] 36.如实施例35所述的颗粒，其中该第一室和该第二室包含相同类型的细胞。

[0467] 37.如实施例35所述的颗粒，其中该第一室中的细胞是与该第二室中的细胞不同类型的细胞。

[0468] 38.如实施例31-36中任一项所述的颗粒，其中该颗粒包含该第一室和该第二室之间的界面，并且细胞设置在该界面处，例如，细胞接触所述该第一室和该第二室。

[0469] 39.如实施例31-37中任一项所述的颗粒，其中该第二室中细胞的数量或密度小于该第一室中细胞的数量或密度。

[0470] 40.如实施例31-39中任一项所述的颗粒，其中该第一室由聚合物溶液形成，该聚合物溶液包含至少0.5x10^6、1x10^6、5x10^6、10x10^6、15x10^6或20x10^6个细胞/mL。

[0471] 41.如实施例31-40中任一项所述的颗粒其中该第一室由包含至少0.5x10^6、1x10^6、5x10^6、10x10^6、15x10^6、20x10^6或25x10^6个细胞/mL的聚合物溶液或由包含1亿至3亿个细胞/mL的聚合物溶液形成。

[0472] 42.如实施例31-41中任一项所述的颗粒，其中该颗粒包含至少100;250;500;750;1,000;2,500;5,000;10,000;25,000;或50,000个细胞。

[0473] 43.如实施例31-42中任一项所述的颗粒，其中该第一室包含至少100;250;500;750;1,000;2,500;5,000;10,000;25,000;或50,000个细胞。

[0474] 44.如实施例31-43中任一项所述的颗粒，其中这些细胞作为单细胞、一个或多个球状体存在，或与一个或多个微载体结合。

[0475] 45.如实施例31-44中任一项所述的颗粒，其中该颗粒的外表面基本上不含细胞。

[0476] 46.如实施例31-45中任一项所述的颗粒，其中：

[0477] a)将一个或多个细胞设置在该第一室内；

[0478] b)第二室中细胞的数量或密度比该第一室中细胞的数量或密度低至少2、5、10、10^2、10^3或10^4倍；

[0479] c)该第一室(例如该第一室的外边界)包含具有式(I-a)的化合物;或

[0480] d)该第二室(例如该第二室的外边界)包含具有式(I-a)的化合物。

[0481] 47.如实施例46所述的颗粒，该颗粒包含性质a。

[0482] 48.如实施例46-47中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质b。

[0483] 49.如实施例46-48中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质c。

[0484] 50.如实施例46-49中任一项所述的颗粒，该颗粒包含性质d。

[0485] 51.如实施例50所述的颗粒，该颗粒包含性质a和b。

[0486] 52.如实施例50所述的颗粒，该颗粒包含性质a、b和c。

[0487] 53.如实施例50所述的颗粒，该颗粒包含性质a、b和d。

[0488] 54.如实施例50所述的颗粒，该颗粒包含性质a、b、c和d。

[0489] 55.如实施例31-54中任一项所述的颗粒，其中该第二室基本上不包含细胞。

[0490] 56.如实施例31-55中任一项所述的颗粒，其中该细胞是上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞、间充质干细胞或角质形成细胞。

[0491] 57.如实施例31-56中任一项所述的颗粒，其中该细胞是RPE(例如ARPE-19)细胞或MSC。

[0492] 58.如实施例31-56中任一项所述的颗粒，其中该细胞是胰岛细胞。

[0493] 59.如实施例31-58中任一项所述的颗粒,其中该细胞表达治疗剂(例如多肽)。

[0494] 60.如实施例59所述的颗粒,其中该多肽是因子VIII蛋白或其变体或因子IX蛋白或其变体。

[0495] 61.如实施例59-60中任一项所述的颗粒,其中该多肽包含SEQ ID NO:1或其变体。

[0496] 62.如实施例59-60中任一项所述的颗粒,其中该多肽包含SEQ ID NO:2或其变体,例如,在SEQ ID NO:2的氨基酸位置148处丙氨酸取代苏氨酸或在SEQ ID NO:2的氨基酸位置338处亮氨酸取代精氨酸。

[0497] 63.如实施例59所述的颗粒,其中该多肽是胰岛素(例如,胰岛素A链、胰岛素B链或胰岛素原)。

[0498] 64.如实施例1-63中任一项所述的颗粒,其中该颗粒包含聚合物。

[0499] 65.如实施例64所述的颗粒,其中该聚合物是多糖。

[0500] 66.如实施例64-65中任一项所述的颗粒,其中该聚合物选自藻酸盐、壳聚糖、透明质酸盐、明胶,聚(L-乳酸)(PLLA)或聚(乳酸乙醇酸)(PLGA)。

[0501] 67.如实施例64-66中任一项所述的颗粒,其中该第一室包含聚合物(例如,多糖,例如藻酸盐)。

[0502] 68.如实施例64-67中任一项所述的颗粒,其中该第二室包含聚合物(例如,多糖,例如藻酸盐)。

[0503] 69.如实施例64-68中任一项所述的颗粒,其中该第一室和该第二室都包含聚合物(例如,多糖,例如藻酸盐)。

[0504] 70.如实施例64-69中任一项所述的颗粒,其中该第一室和该第二室包含相同的聚合物。

[0505] 71.如实施例64-70中任一项所述的颗粒,其中该第一室和该第二室包含不同的聚合物。

[0506] 72.如实施例64-71中任一项所述的颗粒,其中该第一室不包含藻酸盐并且该第二室包含藻酸盐。

[0507] 73.如实施例64-72中任一项所述的颗粒,其中该第一室包含藻酸盐并且该第二室包含除藻酸盐以外的聚合物。

[0508] 74.如实施例64-73中任一项所述的颗粒,其中该第二室包含藻酸盐并且该第一室包含除藻酸盐以外的聚合物。

[0509] 75.如实施例74所述的颗粒,其中该第一室包含透明质酸盐或软骨素并且该第二室包含藻酸盐。

[0510] 76.如实施例73-75中任一项所述的颗粒,其中该第一室的聚合物用具有式(I-a)的化合物修饰。

[0511] 77.如实施例73-76中任一项所述的颗粒,其中该第二室的聚合物用具有式(I-a)的化合物修饰。

[0512] 78.如实施例1-77中任一项所述的颗粒,其中该颗粒的外表面和该第二室的内部包含具有式(I-a)的化合物。

[0513] 79.如实施例64-78中任一项所述的颗粒,其中该第一室和该第二室的聚合物都用具有式(I-a)的化合物修饰。

[0514] 80.如实施例1-79中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物是具有以下式中任一种的化合物：式(I-b)、(I-c)、(I-d)、(I-e)、(I-f)、(II)、(II-a)、(III)、(III-a)、(III-b)、(III-c)、或(III-d)，或其药学上可接受的盐。

[0515] 81.如实施例76-80中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物选自表2中所示的化合物110、化合物112、化合物113或化合物114。

[0516] 82.如实施例76-80中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物是表2中所示的化合物112。

[0517] 83.如实施例76-80中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物是表2中所示的化合物113。

[0518] 84.如实施例76-80中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物是表2中所示的化合物114。

[0519] 85.如实施例76-80中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物并是表2中所示的化合物100。

[0520] 86.如实施例76-80中任一项所述的颗粒，其中具有式(I-a)的化合物是表2中所示的化合物101。

[0521] 87.如实施例76-86中任一项所述的颗粒，其中聚合物的至少0.5％的单体用具有式(I-a)的化合物修饰(例如，聚合物的至少1％、2.5％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或更多的单体用具有式(I-a)的化合物修饰)。

[0522] 88.如实施例76-86中任一项所述的颗粒，其中该颗粒的该第一(内)室中的聚合物的至少0.5％的单体用具有式(I-a)的化合物修饰(例如，该颗粒的该第一(内)室中的聚合物的至少1％、2.5％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或更多的单体用具有式(I-a)的化合物修饰)。

[0523] 89.如实施例76-86中任一项所述的颗粒，其中该颗粒的该第二(外)室中的聚合物的至少0.5％的单体用具有式(I-a)的化合物修饰(例如，该颗粒的该第二(外)室中的聚合物的至少1％、2.5％、5％、10％、15％、20％、25％、30％、35％、40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％、99％或更多的单体用具有式(I-a)的化合物修饰)。

[0524] 90.如实施例76-86中任一项所述的颗粒，其中该聚合物(当用具有式(I-a)的化合物修饰时)包含按重量计0.1％至10％N(例如按重量计0.1％至2％N、2％至4％N、或4％至8％N)的％N(与未经修饰的聚合物相比)的增加，其中％N是通过燃烧分析确定并且对应于该经修饰的聚合物中具有式(I-a)的化合物的量。

[0525] 91.如实施例76-86中任一项所述的颗粒，其中该颗粒的该第一(内)室包含聚合物(当用具有式(I-a)的化合物修饰时)，该聚合物包含按重量计0.1％至10％N(例如按重量计0.1％至2％N、2％至4％N、或4％至8％N)的％N(与未经修饰的聚合物相比)的增加，其中％N是通过燃烧分析确定并且对应于该经修饰的聚合物中具有式(I-a)的化合物的量。

[0526] 92.如实施例76-84中任一项所述的颗粒，其中该颗粒的该第二(外)室包含聚合物(当用具有式(I-a)的化合物修饰时)，该聚合物包含按重量计0.1％至10％N(例如按重量计

0.1％至2％N、2％至4％N、或4％至8％N)的％N(与未经修饰的聚合物相比)的增加,其中％N是通过燃烧分析确定并且对应于该经修饰的聚合物中具有式(I-a)的化合物的量。

[0527] 93.如实施例76-84中任一项所述的颗粒,其中该颗粒是水凝胶胶囊,并且该胶囊的第二(外)室是用未经修饰的藻酸盐和用具有式(I-a)的化合物(例如,化合物101)修饰的藻酸盐的混合物在如下文实施例中所述针对氮气百分比的燃烧分析确定的至少2.0％且小于9.0％氮气(N)或者是3.0％至8.0％、4.0％至7.0％、5.0％至7.0％、或6.0％至7.0％或约6.8％的共轭密度下形成。

[0528] 94.如实施例1-93中任一项所述的颗粒,其中该颗粒是球形颗粒。

[0529] 95.如实施例1-94中任一项所述的颗粒,其中该颗粒通过方法制备,其中该第二室围绕该第一室形成。

[0530] 96.如实施例1-95中任一项所述的颗粒,该颗粒通过包括方法制备,该方法包括使多个聚合物溶液液滴与水性交联溶液接触足以产生颗粒的一段时间,其中该交联溶液包含交联剂、缓冲液和渗透压调节剂。

[0531] 97.如实施例96所述的颗粒,其中该交联溶液还包含工艺添加剂。

[0532] 98.如实施例97所述的颗粒,其中该工艺添加剂是表面活性剂。

[0533] 99.如实施例98所述的颗粒,其中该表面活性剂选自聚山梨醇酯型表面活性剂、聚环氧乙烷(PEO)和聚环氧丙烷(PPO)的共聚物、聚(环氧乙烷)-聚(环氧丙烷)-聚(环氧乙烷)(PEO-PPO-PEO)三嵌段共聚物、聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯80、4-(1,1,3,3-四甲基丁基)苯基-聚乙二醇、辛基苯氧基聚乙氧基乙醇、泊洛沙姆188和泊洛沙姆407。

[0534] 100.如实施例98-99中任一项所述的颗粒,其中该表面活性剂具有至少18或至少24的亲水-亲脂平衡(HLB),并且任选地其中该表面活性剂是泊洛沙姆188。

[0535] 101.如实施例97-99中任一项所述的颗粒,其中该工艺添加剂以至少约0.001％至约0.1％、约0.005％至约0.05％、约0.005％至约0.01％或约0.01％至约0.05％的浓度存在于该交联溶液中。

[0536] 102.如实施例96-101中任一项所述的颗粒,其中该交联剂包含单一类型的二价阳离子或不同类型的混合物,任选地其中该交联剂包含Ba^{2+}、Ca^{2+}和Sr^{2+}中的一种或多种。

[0537] 103.如实施例96-102中任一项所述的颗粒,其中该交联剂选自由以下组成的组:

[0538] a.$BaCl_2$,浓度是1mM至100mM或7.5mM至20mM;

[0539] b.$CaCl_2$,浓度是50mM至100mM;

[0540] c.$SrCl_2$,浓度是37.5mM至100mM;

[0541] d.浓度是5mM至20mM的$BaCl_2$和浓度是37.5mM至12.5mM的$CaCl_2$的混合物;以及

[0542] e.浓度是5mM至20mM的$BaCl_2$和浓度是37.5mM至12.5mM的$SrCl_2$的混合物。

[0543] 104.如实施例96-103中任一项所述的颗粒,其中该缓冲液包含4-(2-羟乙基)-1-哌嗪乙磺酸(HEPES)。

[0544] 105.如实施例96-104中任一项所述的颗粒,其中该渗透压调节剂包含浓度为0.1M至0.3M的甘露醇。

[0545] 106.如实施例96-105中任一项所述的颗粒,其中该交联剂不是$SrCl_2$。

[0546] 107.如实施例96-106中任一项所述的颗粒,其中该交联剂是$BaCl_2$。

[0547] 108.如实施例96-107中任一项所述的颗粒,其中该交联溶液包含25mM HEPES缓冲

液、20mM $BaCl_2$、0.2M甘露醇和0.01％泊洛沙姆188。

[0548] 109.如实施例96-108中任一项所述的颗粒，其中该交联剂是$SrCl_2$，并且该工艺添加剂是浓度是约0.01％的表面活性剂，其中该表面活性剂是聚山梨醇酯80。

[0549] 110.如实施例109所述的颗粒，其中该交联溶液包含50mM氯化锶六水合物、0.165M甘露醇、25mM HEPES和0.01％聚山梨醇酯80。

[0550] 111.如实施例1-110中任一项所述的颗粒，其中该颗粒是水凝胶毫胶囊，该水凝胶毫胶囊在该第一室和该第二室的每一个中包含形成水凝胶的聚合物。

[0551] 112.如实施例111所述的颗粒，其中该第一室中唯一的形成水凝胶的聚合物是高分子量藻酸盐，并且该第二室中的形成水凝胶的聚合物是化学修饰的低分子量藻酸盐和未经修饰的高分子量藻酸盐的混合物。

[0552] 113.多个颗粒的制剂，其中该多个颗粒包含实施例1-112中任一项所述的颗粒。

[0553] 114.如实施例113所述的制剂，其中该多个颗粒中至少75％、80％、85％、90％、95％、99％或更多的颗粒是球形颗粒，并且任选地其中该制剂包含可检测量的工艺添加剂。

[0554] 115.如实施例113-114中任一项所述的制剂，其中该制剂是药学上可接受的制剂。

[0555] 116.一种制备本文所述的颗粒的方法，该颗粒是例如实施例1-115中任一项所述的颗粒。

[0556] 117.如实施例116所述的方法，该方法包括在形成该第二室之前形成该第一室。

[0557] 118.如实施例117所述的方法，该方法包括在形成该第二室的同时形成该第一室。

[0558] 119.如实施例116-118中任一项所述的方法，该方法包括使多个第一和第二聚合物溶液液滴与水性交联溶液接触足以产生具有第一和第二室的水凝胶胶囊的一段时间，其中所述交联溶液包含交联剂、缓冲液和渗透压调节剂。

[0559] 120.如实施例116-119中任一项所述的方法，其中该方法包括使用同轴针。

[0560] 121.如实施例116-120中任一项所述的方法，其中该第一聚合物溶液包含细胞。

[0561] 122.一种在受试者中植入颗粒的方法，该方法包括：

[0562] 提供本文所述的颗粒，例如，在实施例1-112中的任一项中所述的颗粒；并且

[0563] 将该颗粒置于该受试者体内。

[0564] 123.一种向受试者提供物质例如治疗物质例如多肽的方法，该方法包括：

[0565] 提供本文所述的颗粒，例如，在实施例1-112中的任一项中所述的颗粒；该颗粒包含或有能力产生该物质；并且

[0566] 将该颗粒置于该受试者体内。

[0567] 124.一种评估受试者中的颗粒的方法，该方法包括：

[0568] 提供本文所述的颗粒，例如，在实施例1-112中的任一项中所述的颗粒；并且

[0569] 将该颗粒置于该受试者体内。

[0570] 125.一种治疗需要物质例如多肽的受试者的方法，该方法包括：

[0571] 提供本文所述的颗粒，例如，在实施例1-112中的任一项中所述的颗粒；该颗粒包含或有能力产生该物质；并且

[0572] 将该颗粒置于该受试者体内。

[0573] 126.一种给受试者的颗粒组合物，其用于治疗需要物质例如多肽的受试者，该颗粒组合物包括：

[0574] 提供本文所述的颗粒，例如，在实施例1-112中的任一项中所述的颗粒；该颗粒包含或有能力产生该物质；并且

[0575] 将该颗粒置于该受试者体内。

[0576] 实例

[0577] 为了使在此所述的本披露可以得到更完全的理解，列出了以下实例。提供了在本申请中描述的实例来说明所述颗粒、化学修饰、组合物以及在此提供的方法，并且这些实例不会以任何方式解释为限制它们的范围。

[0578] 实例1：用于制备经化学修饰的可植入元件的示例性化合物的合成

[0579] 通用方案

[0580] 以下程序描述了制备用于制备经化学修饰的可植入元件的示例性化合物的方法。本文提供的化合物可以使用对本领域技术人员熟知的下述具体合成方案的修改由容易获得的起始材料制备。应当认识到的是，在给出典型的或优选的工艺条件(即，反应温度、时间、反应物的摩尔比、溶剂、压力等)之处，除非另做说明，其他工艺条件也可以使用。最适宜的反应条件可以随着使用的具体的反应物或溶剂而变化，但是此类条件可以由本领域的技术人员通过常规优化程序进行决定。

[0581] 此外，正如本领域的技术人员将清楚的，常规保护基团对于保护某些功能基团免于经受不希望的反应是必需的。适合于具体的功能基团的保护基团连同适合于保护以及脱保护的条件的选择是本领域熟知的。例如，许多保护基团，以及它们的引入和去除，描述于Greene等人，在有机合成上的保护基团(Protecting Groups in Organic Synthesis)，第二版，威利出版社，纽约，1991，以及其中引用的参考文献。

[0582] Huisgen环加成反应得到1,4-取代的三唑

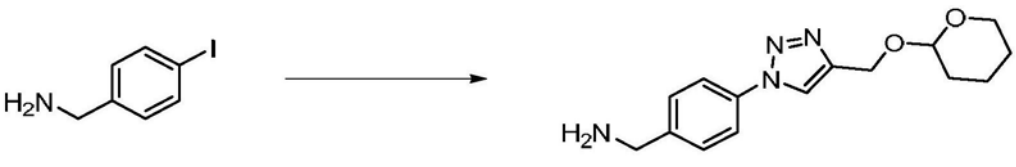
[0583] 铜催化的Huisgen[3+2]环加成用于制备基于三唑的化合物及其组合物、装置和材料。范围和典型方案已成为许多综述的主题(例如，Meldal,M.和Tornoe,C.W.Chem.Rev.[化学综述](2008)108:2952-3015；Hein,J.E.和Fokin,V.V.Chem.Soc.Rev.[化学学会综述](2010)39(4):1302-1315；两者都通过引用并入本文)。

[0584] 

[0585] 在上面所示的实例中，叠氮化物是含有连接元件A的片段中的反应性部分，而炔烃是侧基Z的反应性组分。如下所述，这些功能性把手可以交换以产生结构上相关的三唑产物。这些替代品的制备是类似的，不需要特别考虑。

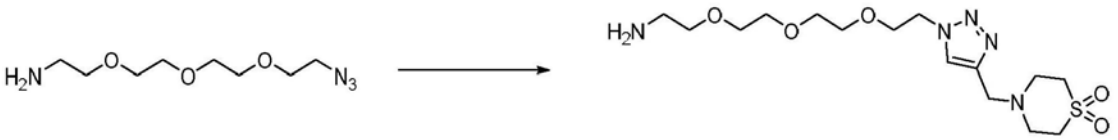
[0586] 

[0587] 以碘化物开始的典型Huisgen环加成方法概述如下。在某些情况下，为了安全起见，碘化物在反应过程中转化为叠氮化物。

[0588] 

[0589] 将叠氮化钠(1.1当量),抗坏血酸钠,(0.1当量)反式-N,N'-二甲基环己烷-1,2-二胺(0.25当量),碘化铜(I)在甲醇(1.0M,限量试剂)中的溶液用鼓泡氮气对进行脱气,并用乙炔(1当量)和芳基碘(1.2当量)处理。将该混合物在室温下搅拌5分钟,然后温热至55℃,保持16小时。然后将反应冷却至室温,通过漏斗过滤,并且将滤饼用甲醇洗涤。将合并的滤液浓缩并通过硅胶快速色谱法纯化(120g二氧化硅,梯度为二氯甲烷中的0至40%(3%氢氧化铵水溶液,22%甲醇,余量为二氯甲烷),以得到所希望的目标材料。

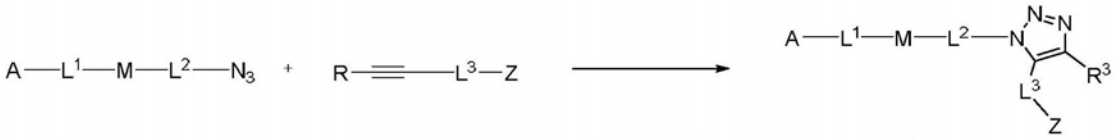
[0590] 以叠氮化物开始的典型Huisgen环加成程序概述如下。

[0591] 

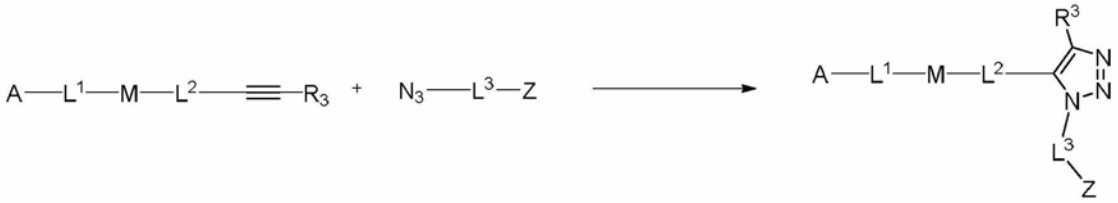
[0592] 将三[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]胺(0.2当量)、三乙胺(0.5当量)、碘化铜(I)(0.06当量)在甲醇(0.4M,限量试剂)中的溶液用乙炔(1.0当量)处理并冷却至0℃。使反应经30分钟温热至室温,然后加热至55℃,保持16小时。将反应冷却至室温,浓缩,并用HPLC(C18柱,在二氯甲烷中0至100%梯度(3%氢氧化铵水溶液,22%甲醇,余量为二氯甲烷))纯化,得到所希望的目标材料。

[0593] Huisgen环加成反应得到1,5-取代的三唑

[0594] 还用钌催化剂进行Huisgen[3+2]环加成以优先获得1,5-二取代产物(例如,如Zhang等人J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志],2005,127,15998-15999;Boren等人,J.Am.Chem.Soc.[美国化学学会杂志],2008,130,8923-8930所述,其每一篇通过引用整体并入本文)。

[0595] 

[0596] 如前所述,叠氮化物和炔烃基团可以交换形成如下所述的类似的三唑。

[0597] 

[0598] 典型程序描述如下:将炔烃(1当量)和叠氮化物(1当量)在二噁烷(0.8M)中的溶液滴加到五甲基环戊二烯基双(三苯基膦)氯化钌(II)(0.02当量)在二噁烷(0.16M)中的溶液中。将小瓶用氮气吹扫,密封并将混合物加热至60℃,保持12小时。浓缩所得混合物并通过硅胶快速色谱纯化,得到所需化合物。

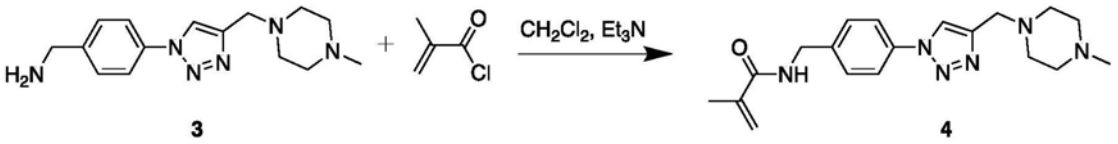
[0599] (4-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(3)的实验程序

[0600] 

1 2 3

[0601] 将(4-碘苯基)甲胺(1,843mg,3.62mmol,1.0当量)、(1S,2S)-N1,N2-二甲基环己烷-1,2-二胺(74μL,0.47mmol,0.13当量)、抗坏血酸钠(72mg,0.36mmol,0.1当量)、碘化铜(69mg,0.36mmol,0.1当量)、叠氮化钠(470mg,7.24mmol,2.0当量)和1-甲基-4-(丙-2-炔-1-基)哌嗪(2,0.5g,3.62mmol,1.0当量)在甲醇(9mL)和水(1mL)中的混合物用氮气吹扫5分钟并加热至55℃过夜。将反应混合物冷却至室温,减压浓缩,并且用二氯甲烷萃取褐色浆液。将硅藻土加入到合并的二氯甲烷相中,并在减压下除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(80g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至7.5%,得到(4-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(3,0.45g,43%)。LCMS m/z:针对$C_{15}H_{22}N_6$计算的$[M+H]^+$是287.2;发现值是287.1。

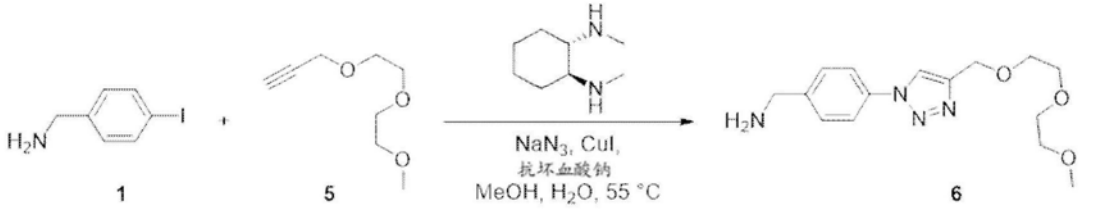
[0602] N-(4-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(4)的实验程序

[0603] 

3 4

[0604] 将(4-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(3,1.2g,4.19mmol,1.0当量)和三乙胺(0.70mL,5.03mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(50mL)中的溶液用冰浴冷却至0℃并且添加甲基丙烯酰氯(0.43mL,4.40mmol,1.05当量,在5mL CH_2Cl_2中)。将反应搅拌一天,同时用冰浴冷却。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱(80g)纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至7.5%。减压除去溶剂,并且将得到的固体用二乙醚研磨,过滤并用二乙醚洗涤多次,得到N-(4-(4-((4-甲基哌嗪-1-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(4,0.41g,28%收率),为白色固体。LCMS m/z:针对$C_{19}H_{26}N_6O$计算的$[M+H]^+$是355.2;发现值是355.2。

[0605] (4-(4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(6)的实验程序

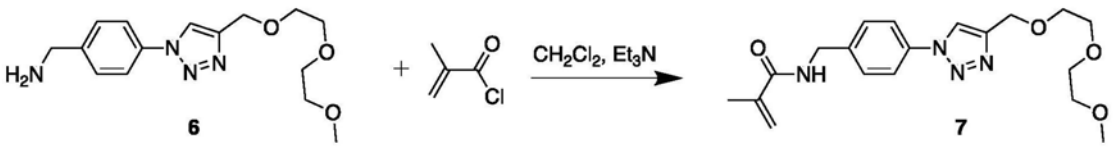
[0606] 

1 5 6

[0607] 将(4-碘苯基)甲胺(1,2.95g,12.64mmol,1.0当量)、(1S,2S)-N1,N2-二甲基环己烷-1,2-二胺(259μL,1.64mmol,0.13当量)、抗坏血酸钠(250mg,1.26mmol,0.1当量)、碘化铜(241mg,1.26mmol,0.1当量)、叠氮化钠(1.64g,25.29mmol,2.0当量)和3-(2-(2-甲氧基

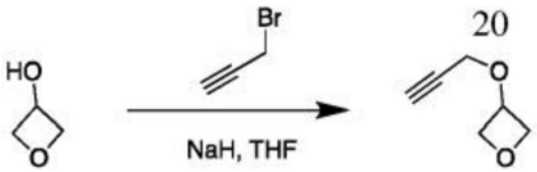
乙氧基)乙氧基)丙-1-炔(5,2.0g,12.64mmol,1.0当量)在甲醇(40mL)和水(4mL)中的混合物用氮气吹扫的5分钟然后加热至55℃过夜。将反应混合物冷却至室温并减压浓缩。将残余物溶于二氯甲烷中,过滤,并用Celite® (10g)浓缩。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为洗脱剂,在硅胶(220g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至6.25%,得到(4-(4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(6,1.37g,35%)。LCMS m/z:针对$C_{15}H_{22}N_4O_3$计算的$[M+H]^+$是307.2;发现值是307.0。

[0608] N-(4-(4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(7)的实验程序

[0609] 

[0610] 将4-(4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(6,1.69g,5.52mmol,1.0当量)和三乙胺(0.92mL,6.62mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(50mL)中的溶液用冰浴冷却至0℃,并逐滴添加甲基丙烯酰氯(0.57mL,5.79mmol,1.05当量)。将反应在室温下搅拌4小时。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶(80g)色谱纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至1.25%,得到N-(4-(4-((2-(2-甲氧基乙氧基)乙氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(7,1.76g,85%产率),为白色固体。LCMS m/z:针对$C_{19}H_{26}N_4O_4$计算的$[M+H]^+$是375.2;发现值是375.0。

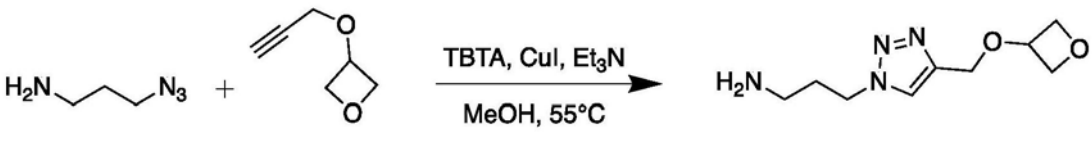
[0611] 3-(丙-2-炔-1-基氧基)氧杂环丁烷(9)的实验程序

[0612] 

8 9

[0613] 用冰浴冷却氢化钠(27.0g,675mmol,60%纯度)在THF(200mL)中的悬浮液。逐滴添加氧杂环丁烷-3-醇(8,25g,337mmol)并在0℃下搅拌30分钟。然后以逐滴方式添加3-溴丙-1-炔(9,41.2mL,371mmol,80%纯度)。将混合物搅拌过夜,同时使其温热至室温。将混合物经硅藻土过滤,用THF洗涤,并在减压下用硅藻土浓缩。将粗产物在硅胶(220g)上纯化,并且用己烷/EtOAc洗脱。流动相中EtOAc的浓度从0增加至25%,得到黄色油状物(9,18.25g,48%)。

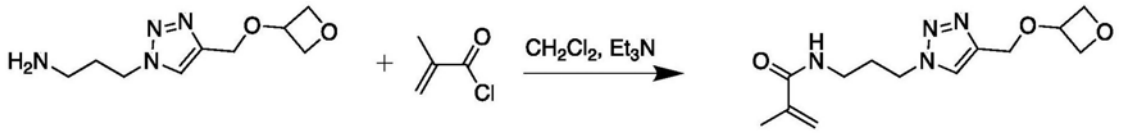
[0614] 3-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙-1-胺(11)的实验程序

[0615] 

10 9 11

[0616] 将3-(丙-2-炔-1-基氧基)氧杂环丁烷(9,7.96g,71mmol,1.0当量)、3-叠氮基丙-1-胺(10、7.82g,78mmol,1.1当量)、三[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]-胺(8.29g,15.6mmol,0.22当量)、碘化铜(1.35g,7.1mmol,0.1当量)和三乙胺(2.47mL,17.8mmol,0.25当量)在甲醇(80mL)中的混合物温热至55℃并在氮气氛下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,添加硅藻土(20g),并减压浓缩。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(220g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至15%,得到3-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙-1-胺(11,11.85g,79%),为黄色油状物。LCMS m/z:针对$C_9H_{16}N_4O_2$计算的$[M+H]^+$是213.1;发现值是213.0。

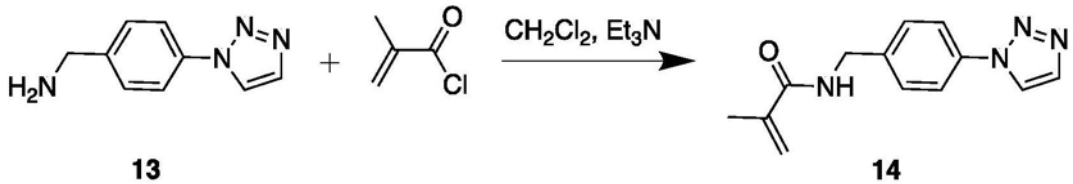
[0617] N-(3-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙基)甲基丙烯酰胺(12)的实验程序

[0618] 

11 12

[0619] 将3-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙-1-胺(11,3.94g,18.56mmol,1.0当量)和三乙胺(3.1mL,22.28mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(100mL)中的溶液用冰浴冷却至0℃并逐滴添加甲基丙烯酰氯(1.99mL,20.42mmol,1.1当量)。将反应物搅拌过夜,同时使其温热至室温。添加20克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/甲醇作为流动相,通过硅胶色谱(220g)纯化残余物。甲醇浓度从0%逐渐增加到5%,得到N-(3-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙基)甲基丙烯酰胺(12,3.22g,62%收率),为固体。LCMS m/z:针对$C_{13}H_{20}N_4O_3$计算的$[M+H]^+$是281.2;发现值是281.0。

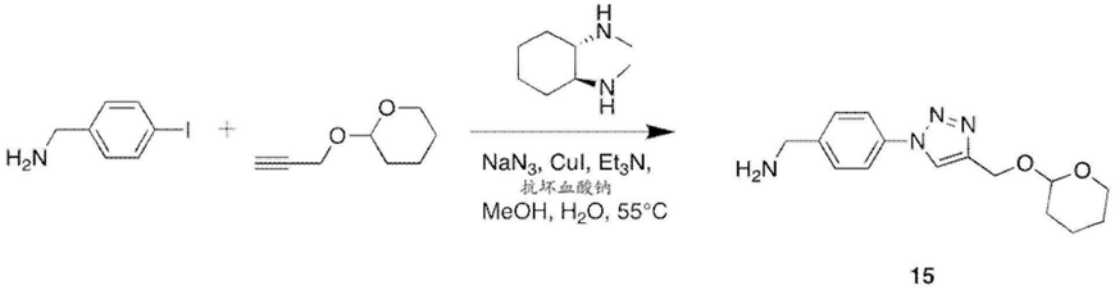
[0620] N-(4-(1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(14)的实验程序

[0621] 

13 14

[0622] 向(4-(1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(13,获得自WuXi,1.2g,5.70mmol,1.0当量)和三乙胺(15mL,107.55mmol,18.9当量)在CH_2Cl_2(100mL)中的溶液中以逐滴方式缓慢添加甲基丙烯酰氯(893mg,8.54mmol,1.5当量)。将反应搅拌过夜。添加20克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱法纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加到1.25%,得到N-(4-(1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(14,1.38g,40%收率)。

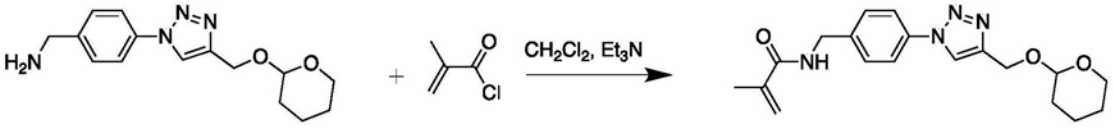
[0623] (4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(15)的实验程序

[0624] 

15

[0625] 将(4-碘苯基)甲胺盐酸盐(5.0g,18.55mmol,1.0当量)、(1S,2S)-N1,N2-二甲基环己烷-1,2-二胺(0.59mL,3.71mmol,0.2当量)、抗坏血酸钠(368mg,1.86mmol,0.1当量)、碘化铜(530mg,2.78mmol,0.15当量)、叠氮化钠(2.41g,37.1mmol,2.0当量)、Et_3N(3.11mL,22.26mmol,1.2当量)和2-(丙-2-炔-1-基氧基)四氢-2H-吡喃(2.6g,18.55mmol,1.0当量)在甲醇(50mL)和水(12mL)中的混合物用氮气吹扫5分钟并且加热至55℃过夜。将反应混合物冷却至室温并通过413滤纸过滤。添加硅藻土,并且减压除去溶剂,并且将残余物用硅胶(120g)纯化(用二氯甲烷/(含12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相)。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至6.25%,得到(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(15,3.54g,66%),为白色固体。LCMS m/z:针对$C_{15}H_{20}N_4O_2$计算的$[M+H]^+$是289.2;发现值是289.2。

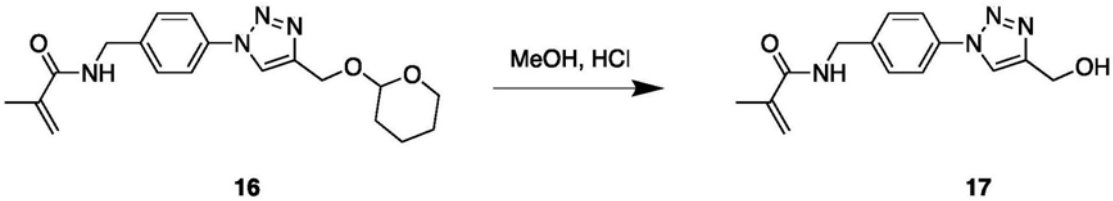
[0626] N-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(16)的实验程序

[0627] 

15 16

[0628] 将(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(15,3.46g,12.00mmol,1.0当量)和三乙胺(2.01mL,14.40mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(40mL)中的溶液用冰浴冷却至0℃并且以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(1.23mL,12.60mmol,1.05当量,稀释于5mL CH_2Cl_2中)。移去冷却浴并将反应搅拌4小时。添加20克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱(80g)纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至3.75%,得到N-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(16,2.74g,64%产率),为白色固体。LCMS m/z:针对$C_{19}H_{24}N_4O_3$计算的$[M+H]^+$是357.2;发现值是357.3。

[0629] N-(4-(4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(17)的实验程序

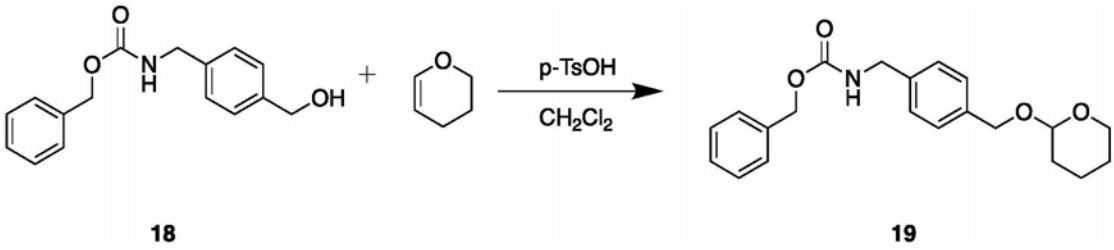
[0630] 

16 17

[0631] 将N-(4-(4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(16,1.2g,3.37mmol,1.0当量)的溶液在室温下溶解于甲醇(6mL)和HCl(1N,水溶液,9mL)中过夜。添加

硅藻土并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶色谱(24g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至12.5%,得到N-(4-(4-(羟基甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(17,0.85g,92%产率),为白色固体。LCMS m/z:针对$C_{14}H_{16}N_4O_2$计算的$[M+H]^+$是273.1;发现值是273.1。

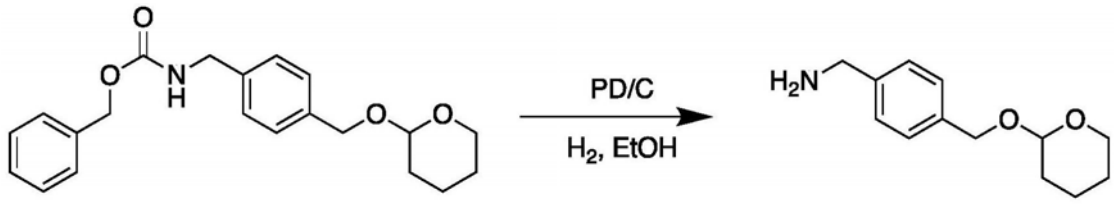
[0632] (4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)苄基)氨基甲酸酯(19)的实验程序

[0633] 

18 19

[0634] 将在二氯甲烷(100mL)中的苄基(4-(羟基甲基)苄基)氨基甲酸酯(2.71g,10mmol,1当量)、3,4-二氢-2H-吡喃(1.81mL,20mmol,2当量)、对甲苯磺酸一水合物(285mg,1.5mmol,0.15当量)在室温下搅拌过夜。添加硅藻土并且减压除去溶剂。将粗产物在硅胶(24g)上纯化,使用己烷/EtOAc作为洗脱剂,从100%己烷开始,并将EtOAc的浓度逐渐增加至100%,得到苄基(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)苄基)-氨基甲酸酯(19,2.4g,68%),为无色油状物。LCMS m/z:针对$C_{21}H_{25}NO_4$计算的$[M+Na]^+$是378.17,发现值是378.17。

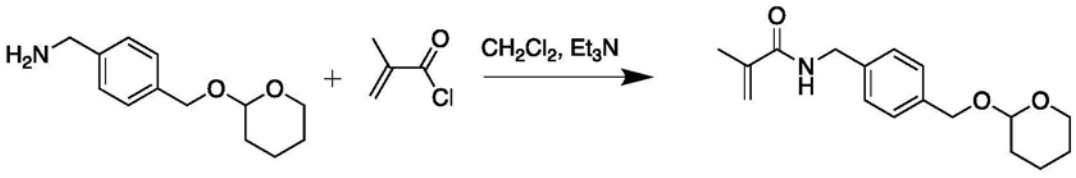
[0635] (4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-苯基)甲胺(20)的实验程序

[0636] 

19 20

[0637] 将在EtOH中的(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)苄基)氨基甲酸酯(19,1.5g,4.2mmol,1当量)、钯碳(160mg,10wt%)短暂抽空,并且然后通过气球添加氢气,并且将混合物在室温下搅拌1小时。添加硅藻土并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(12g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至25%,得到(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)苯基)甲胺(20,890mg,95%),为无色油状物。LCMS m/z:针对$C_{13}H_{19}NO_2$计算的$[M+H]^+$是222.15,发现值是222.14。

[0638] N-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)苄基)-甲基丙烯酰胺(21)的实验程序

[0639] 

20 21

[0640] 将(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)苯基)甲胺(20,0.5g,2.26mmol,1.0当

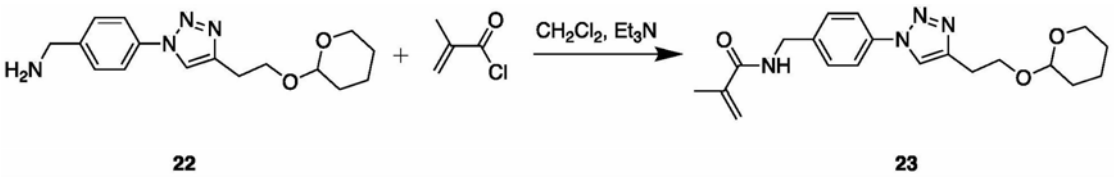
量)和三乙胺(0.47mL,3.39mmol,1.5当量)在CH_2Cl_2(10mL)中的溶液短暂抽空并用氮气冲洗。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.33mL,3.39mmol,1.5当量)。将反应混合物在室温下搅拌过夜。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。将残余物通过硅胶色谱法(12g)纯化,使用己烷/EtOAc作为洗脱剂,从100%己烷开始,并将EtOAc的浓度逐渐增加至100%,得到N-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)苄基)甲基丙烯酰胺(21,0.47g,72%收率),为无色固体。LCMS m/z:针对$C_{17}H_{23}NO_3$计算的$[M+Na]^+$是312.16;发现值是312.17。

[0641] (4-(4-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(22)的实验程序

[0642] 

[0643] 将(4-碘苯基)甲胺(5.0g,21.45mmol,1.0当量)、(1S,2S)-N1,N2-二甲基环己烷-1,2-二胺(0.44mL,2.79mmol,0.13当量)、抗坏血酸钠(425mg,2.15mmol,0.1当量)、碘化铜(409mg,2.15mmol,0.1当量)、叠氮化钠(2.79g,42.91mmol,2.0当量)和2-(丁-3-炔-1-基氧基)四氢-2H-吡喃(3.36mL,21.45mmol,1.0当量)在甲醇(20mL)和水(5mL)中的混合物用氮气吹扫5分钟并加热至55℃过夜。将反应混合物冷却至室温并通过413滤纸过滤。添加硅藻土(10g)并且减压除去溶剂,并且将残余物用硅胶(220g)纯化,用二氯甲烷/(含12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至5%,得到(4-(4-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(22,3.15g,49%),为固体。LCMS m/z:针对$C_{16}H_{22}N_4O_2$计算的$[M+H]^+$是303.18;发现值是303.18。

[0644] N-(4-(4-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(23)的实验程序

[0645] 

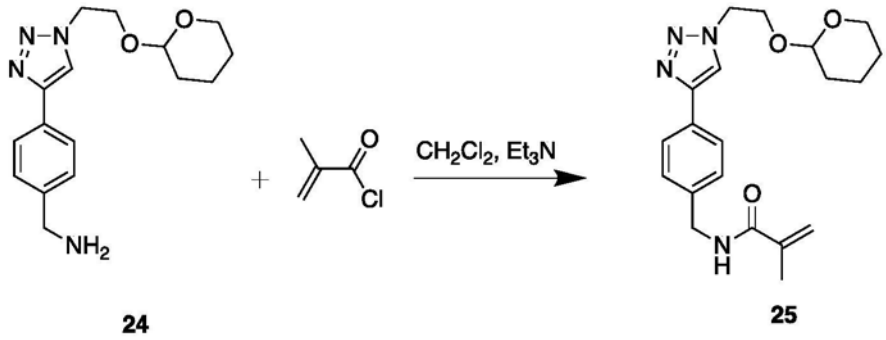
[0646] 将(4-(4-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(22,3.10g,10.25mmol,1.0当量)和三乙胺(1.71mL,12.30mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(55mL)中的溶液用冰浴冷却至0℃并且以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(1.05mL,12.30mmol,1.2当量,稀释于5mL CH_2Cl_2中)。移去冷却浴并将反应搅拌4小时。添加8克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱(80g)纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至2.5%,得到N-(4-(4-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(23,2.06g,54%产率),为白色固体。LCMS m/z:针对$C_{20}H_{26}N_4O_3$计算的$[M+H]^+$是371.2078;发现值是371.2085。

[0647] (4-(1-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)苯基)甲胺

(24)的实验程序

[0648] 将(4-乙炔基苯基)甲胺(2.36g,18.00mmol,1.0当量)、(1S,2S)-N1,N2-二甲基环己烷-1,2-二胺(0.56mL,3.60mmol,0.2当量)、抗坏血酸钠(357mg,1.80mmol,0.1当量)、碘化铜(514mg,2.70mmol,0.15当量)和2-(2-叠氮基乙氧基)四氢-2H-吡喃(3.08,18.00mmol,1.0当量)在甲醇(24mL)和水(6mL)中的混合物用氮气吹扫5分钟并加热至55℃过夜。将反应混合物冷却至室温,并用硅藻土过滤,并用MeOH(3x50mL)冲洗。减压除去溶剂并将残余物重新溶于二氯甲烷中,添加硅藻土(20g)并且减压除去溶剂,并将残余物用硅胶(120g)纯化,用二氯甲烷/(含12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至25%,得到(4-(1-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)苯基)甲胺(24,3.51g,64%),为淡黄色固体。LCMSm/z:针对$C_{16}H_{22}N_4O_2$计算的$[M+H]^+$是303.1816;发现值是303.1814。

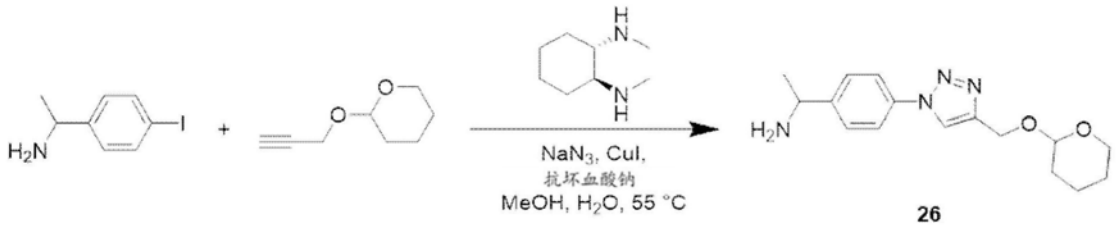
[0649] N-(4-(1-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)苄基)甲基丙烯酰胺(25)的实验程序

[0650] 

24 25

[0651] 将(4-(1-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)苯基)甲胺(24,1.5g,4.96mmol,1.0当量)和三乙胺(1.04mL,7.44mmol,1.5当量)在CH_2Cl_2(30mL)中的溶液短暂抽空并用氮气冲洗。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.72mL,7.44mmol,1.5当量)。将反应混合物在室温下搅拌2小时。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。将残余物通过硅胶色谱法(40g)纯化,使用已烷/EtOAc作为洗脱剂,从100%已烷开始,并将EtOAc的浓度逐渐增加至100%,得到N-(4-(1-(2-((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)苄基)甲基丙烯酰胺(25,0.9g,49%收率),为无色固体。LCMS m/z:针对$C_{20}H_{26}N_4O_3$计算的$[M+Na]^+$是371.2078;发现值是371.2076。

[0652] 1-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)乙-1-胺(26)的实验程序

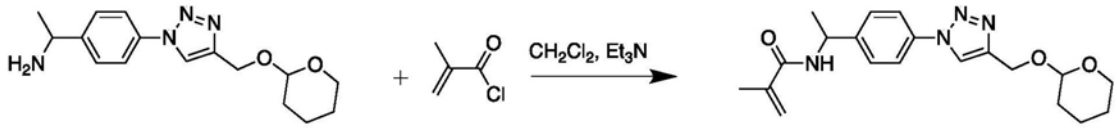
[0653] 

26

[0654] 将1-(4-碘苯基)乙-1-胺盐酸盐(1.0g,4.05mmol,1.0当量)、(1S,2S)-N1,N2-二甲基环己烷-1,2-二胺(0.08mL,0.53mmol,0.13当量)、抗坏血酸钠(80mg,0.40mmol,0.1当量)、碘化铜(77mg,0.40mmol,0.1当量)、叠氮化钠(526g,8.09mmol,2.0当量)和2-(丙-2-炔-1-基氧基)四氢-2H-吡喃(0.57g,4.05mmol,1.0当量)在甲醇(9mL)和水(1mL)中的混合

物用氮气吹扫5分钟并加热至55℃过夜。将反应混合物冷却至室温，且减压除去溶剂。将残余物重新溶解在二氯甲烷中，并通过硅藻土塞过滤。将硅藻土加入滤液中并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12％(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相，在硅胶(40g)上纯化残余物。(含有12％(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0％逐渐增加至5％，得到1-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)乙-1-胺(26，0.62g，51％)，为淡黄色固体。LCMS m/z:针对$C_{16}H_{22}N_4O_2$计算的$[M+H]^+$是303.2;发现值是303.2。

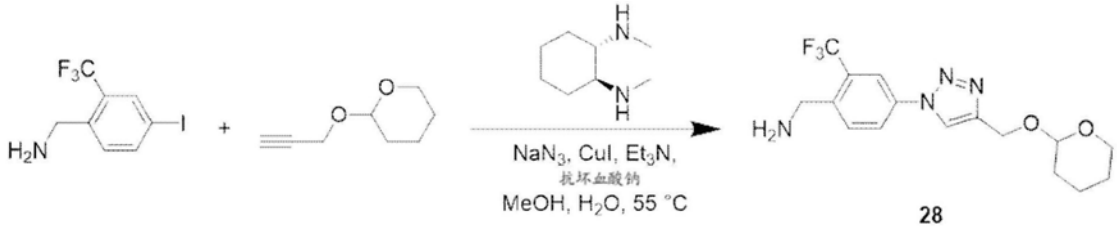
[0655] N-(1-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)乙基)甲基丙烯酰胺(27)的实验程序

[0656] 

26 27

[0657] 将1-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)乙-1-胺(26，0.52g，1.7mmol，1.0当量)和三乙胺(0.29mL，2.1mmol，1.2当量)在CH_2Cl_2(11mL)中的溶液用冰浴冷却至0℃并且以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.18mL，1.8mmol，1.05当量，在11mL CH_2Cl_2中稀释)。移去冷却浴并将反应搅拌4小时。添加5克硅藻土，并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12％(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相，通过硅胶色谱(40g)纯化残余物。(含有12％(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0％逐渐增加至2.5％，得到N-(1-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)乙基)甲基丙烯酰胺(27，0.49g，76％产率)，为白色固体。LCMS m/z:针对$C_{20}H_{26}N_4O_3$计算的$[M+H]^+$是371.2078;发现值是371.2087。

[0658] (4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-2-(三氟甲基)苯基)甲胺(28)的实验程序

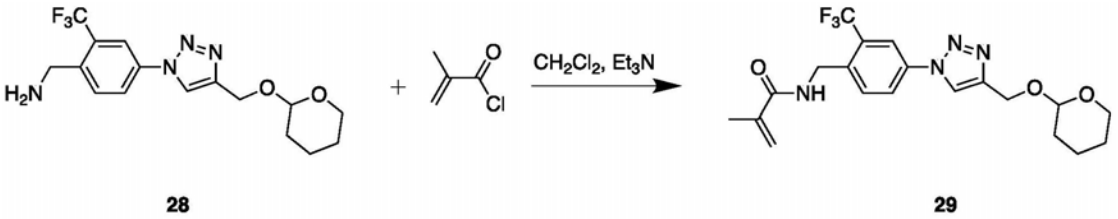
[0659] 

28

[0660] 将(4-碘-2-(三氟甲基)苯基)甲胺(3.0g，9.97mmol，1.0当量)、(1S,2S)-N1,N2-二甲基环己烷-1,2-二胺(0.31mL，1.99mmol，0.2当量)、抗坏血酸钠(197mg，1.00mmol，0.1当量)、碘化铜(285mg，1.49mmol，0.15当量)、叠氮化钠(1.30g，19.93mmol，2.0当量)、Et_3N(1.67mL，11.96mmol，1.2当量)和2-(丙-2-炔-1-基氧基)四氢-2H-吡喃(1.40g，9.97mmol，1.0当量)在甲醇(24mL)和水(6mL)中的混合物用氮气吹扫5分钟并加热至55℃过夜。将反应混合物冷却至室温，并通过硅藻土塞过滤，并用甲醇(3x50mL)冲洗。将硅藻土加入滤液中并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12％(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相，用硅胶(120g)纯化残余物。(含有12％(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0％逐渐增加至25％，得到(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-2-(三氟甲基)苯基)甲胺(28，2.53g，71％)，为绿色油状物。LCMS m/z:针对$C_{16}H_{19}N_4O_2F_3$计算的$[M+H]^+$是

357.2;发现值是357.1。

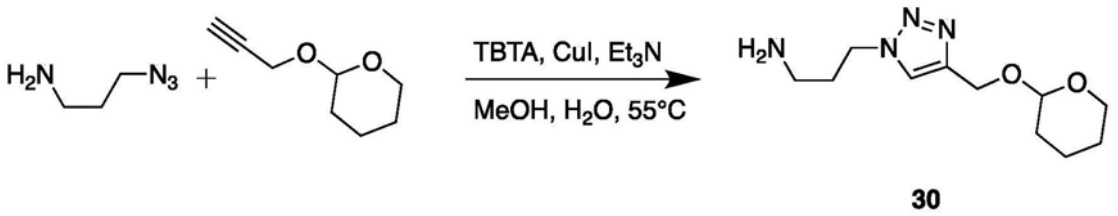
[0661] N-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-2(三氟甲基)苄基)甲基丙烯酰胺(29)的实验程序

[0662] 

28 29

[0663] 将(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-2-(三氟甲基)苯基)甲胺(28,1.0g,2.81mmol,1.0当量)和三乙胺(0.59mL,4.21mmol,1.5当量)在CH_2Cl_2(25mL)中的溶液短暂抽空并用氮气冲洗。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.41mL,4.21mmol,1.5当量)。将反应混合物在室温下搅拌6小时。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。将残余物通过硅胶色谱法(40g)纯化,使用己烷/EtOAc作为洗脱剂,从100%己烷开始,并将EtOAc的浓度逐渐增加至100%,得到N-(4-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-2(三氟甲基)苄基)甲基丙烯酰胺(29,0.65g,55%产率),为无色固体。LCMS m/z:针对$C_{20}H_{23}N_4O_3F_3$计算的$[M+H]^+$是425.2;发现值是425.1。

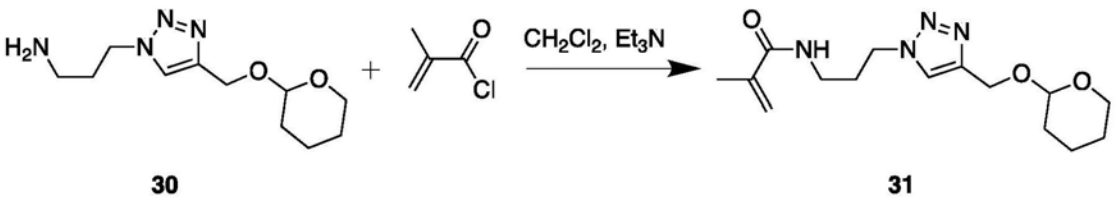
[0664] 3-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙-1-胺(30)的实验程序

[0665] 

30

[0666] 将3-叠氮基丙-1-胺盐酸盐(1.5g,14.98mmol,1.0当量)、三[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]-胺(1.99g,3.75mmol,0.25当量)、碘化铜(0.29g,1.50mmol,0.1当量)和三乙胺(0.52mL,3.75mmol,0.25当量)在甲醇(50mL)和水(6mL)中的混合物用氮气吹扫5分钟后冷却至0℃。添加2-(丙-2-炔-1-基氧基)四氢-2H-吡喃(2.10g,14.98mmol,1.0当量),并将反应混合物温热至55℃并在氮气氛下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,用硅藻土塞过滤,并用甲醇(3x50mL)冲洗。将硅藻土(20g)加入到滤液中,减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(120g)上纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至20%,得到3-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙-1-胺(30,2.36g,66%)。LCMS m/z:针对$C_{11}H_{20}N_4O_2$计算的$[M+H]^+$是241.2;发现值是241.2。

[0667] N-(3-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙基)甲基丙烯酰胺(31)的实验程序

[0668] 

30 31

[0669] 将3-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙-1-胺(30,1.0g,4.16mmol,1.0当量)和三乙胺(0.58mL,4.16mmol,1.0当量)在CH_2Cl_2(20mL)中的溶液短暂抽空并用氮气冲洗。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.40mL,4.16mmol,1.0当量)。将该反应混合物在室温下搅拌过夜。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱(40g)纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加到20%,得到N-(3-(4-(((四氢-2H-吡喃-2-基)氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)丙基)甲基丙烯酰胺(31,0.96g,75%产率),为无色油状物。LCMS m/z:针对$C_{15}H_{24}N_4O_3$计算的$[M+H]^+$是309.2;发现值是309.4。

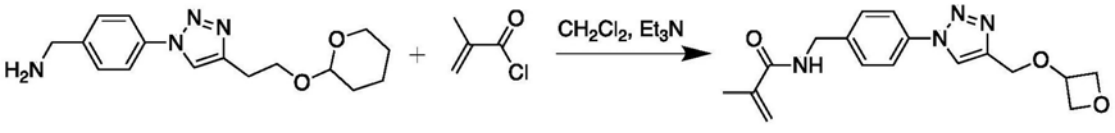
[0670] (4-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(32)的实验程序

[0671] 

32

[0672] 将(4-碘苯基)甲胺盐酸盐(2.64g,9.80mmol,1.0当量)、(1S,2S)-N1,N2-二甲基环己烷-1,2-二胺(0.31mL,1.96mmol,0.2当量)、抗坏血酸钠(198mg,0.98mmol,0.1当量)、碘化铜(279mg,1.47mmol,0.15当量)、叠氮化钠(1.27g,19.59mmol,2.0当量)、Et_3N(1.64mL,11.75mmol,1.2当量)和3-(丙-2-炔-1-基氧基)氧杂环丁烷(9,1.10g,9.80mmol,1.0当量)在甲醇(24mL)和水(6mL)中的混合物用氮气吹扫5分钟并加热至55℃过夜。将反应混合物冷却至室温,并通过硅藻土塞过滤,并用甲醇(3x50mL)冲洗。将硅藻土加入滤液中并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(120g)上纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至25%,得到(4-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(32,1.43g,56%),为油状物。LCMS m/z:针对$C_{13}H_{16}N_4O_2$计算的$[M+H]^+$是261.1346;发现值是261.1342。

[0673] N-(4-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲基丙烯酰胺(33)的实验程序

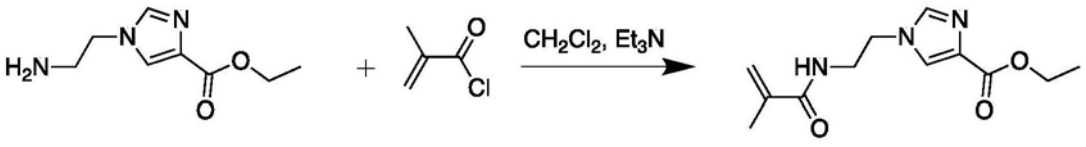
[0674] 

32 33

[0675] 将(4-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苯基)甲胺(32,0.58g,2.23mmol,1.0当量)和三乙胺(0.47mL,3.34mmol,1.5当量)在CH_2Cl_2(20mL)中的溶液短暂抽空并用氮气冲洗。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.32mL,3.34mmol,1.5当量)。将反应混合物在室温下搅拌6小时。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。将残余物通过硅胶色谱法(24g)纯化,使用己烷/EtOAc作为洗脱剂,从100%己烷开始,并将EtOAc的浓度逐渐增加至100%,得到N-(4-(4-((氧杂环丁烷-3-基氧基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)苄基)甲

基丙烯酰胺(33,0.48g,66%产率),为无色固体。LCMS m/z:针对$C_{17}H_{20}N_4O_3$计算的$[M+H]^+$是329.1608;发现值是329.1611。

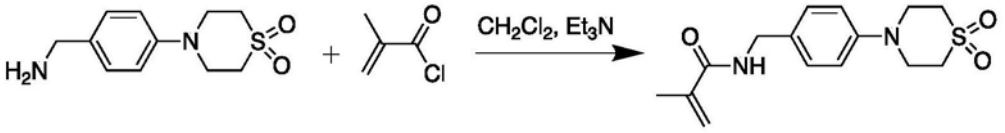
[0676] 乙基1-(2-甲基丙烯酸酰胺乙基)-1H-咪唑-4-甲酸酯(35)的实验程序

[0677] 

34 35

[0678] 将乙基1-(2-氨基乙基)-1H-咪唑-4-甲酸酯(34,2.0g,10.91mmol,1.0当量)和三乙胺(3.80mL,27.29mmol,2.5当量)在CH_2Cl_2(20mL)中的溶液短暂抽空并用氮气冲洗。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(1.60mL,16.37mmol,1.5当量)。将反应混合物在室温下搅拌3小时。添加15克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱(40g)纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至25%,得到乙基1-(2-甲基丙烯酸酰胺乙基)-1H-咪唑-4-甲酸酯(35,1.28g,47%产率,为无色固体。LCMS m/z:针对$C_{12}H_{17}N_3O_3$计算的$[M+H]^+$是252.1;发现值是252.1。

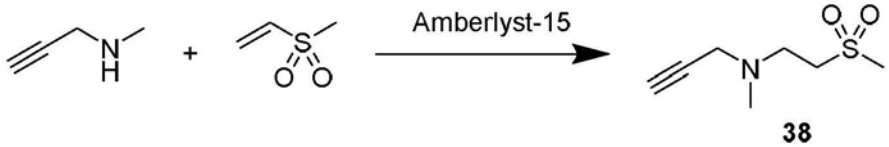
[0679] N-(4-(1,1-二氧化硫代吗啉)苄基)甲基丙烯酰胺(37)的实验程序

[0680] 

36 37

[0681] 向4-(4-(氨基甲基)苯基)硫代吗啉1,1-二氧化物盐酸盐(36,1.15g,4.15mmol,1.0当量)和三乙胺(1.39mL,9.97mmol,2.4当量)在CH_2Cl_2(80mL)中的溶液中以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.43mL,4.36mmol,1.05当量,在CH_2Cl_2中,5mL)的溶液。将反应混合物在室温下搅拌22小时。添加8克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱(80g)纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至3.75%,得到N-(4-(1,1-二氧化硫代吗啉)苄基)甲基丙烯酰胺(37,0.32g,25%产率),为固体。

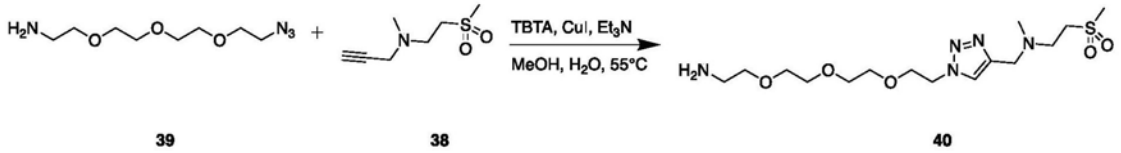
[0682] N-甲基-N-(2-(甲基磺酰基)乙基)丙-2-炔-1-胺(38)的实验程序

[0683] 

38

[0684] 向1-甲基磺酰基乙烯(4.99g,47.03mmol,4.13mL)和Amberlyst-15((30%w/w))的混合物中以逐滴方式添加N-甲基丙-2-炔-1-胺(2.6g,37.62mmol)。将混合物在室温下搅拌12小时。过滤除去催化剂,并且减压浓缩滤液,得到:N-甲基-N-(2-(甲基磺酰基)乙基)丙-2-炔-1-胺(38,6.43g,98%),为油状物。LCMS m/z:针对$C_7H_{13}NSO_2$计算的$[M+H]^+$是176.11;发现值是176.1。

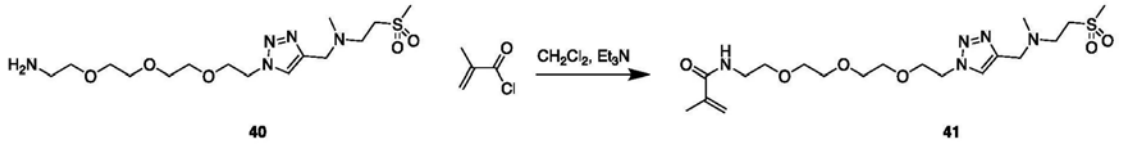
[0685] N-((1-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)-N-甲基-2-(甲基磺酰基)乙-1-胺(40)的实验程序

[0686] 

39 38 40

[0687] 将N-甲基-N-(2-(甲基磺酰基)乙基)丙-2-炔-1-胺(38,5.02g,28.64mmol,1.25当量)、三[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]-胺(3.04g,5.73mmol,0.25当量)、碘化铜(436mg,2.29mmol,0.1当量)和三乙胺(0.8mL,5.7mmol,0.25当量)在甲醇(50mL)和水(6mL)中的混合物抽真空并用氮气冲洗(3次)并用冰浴冷却。以逐滴方式添加2-(2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-胺(39,5.02g,22.91mmol,1.0当量),移去冷却浴,并且将混合物为搅拌5分钟。将反应温热至55℃并在氮气氛下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,添加硅藻土(20g),并减压浓缩。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(220g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至25%,得到N-((1-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)-N-甲基-2-(甲基磺酰基)乙-1-胺(40,4.98g,55%),为油状物。LCMS m/z:针对$C_{15}H_{31}N_5O_5S$计算的$[M+H]^+$是394.2;发现值是394.2。

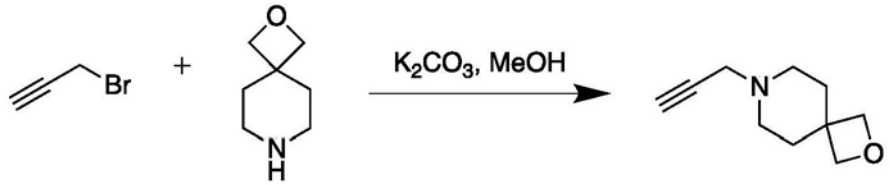
[0688] N-(2-(2-(2-(2-(4-((甲基(2-(甲基磺酰基)乙基)氨基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)甲基丙烯酰胺(41)的实验程序

[0689] 

40 41

[0690] 向N-((1-(2-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)-N-甲基-2-(甲基磺酰基)乙-1-胺(40,1.0g,2.54mmol,1.0当量)和三乙胺(0.43mL,3.05mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(15mL)中的溶液中以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.30mL,3.05mmol,1.5当量)的溶液。将反应混合物在室温下搅拌5小时。添加硅藻土并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱(40g)纯化残余物。(含12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至12.5%,得到N-(2-(2-(2-(2-(4-((甲基(2-(甲基磺酰基)乙基)氨基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)甲基丙烯酰胺(41,0.86g,73%产率),为油状物。LCMS m/z:针对$C_{19}H_{35}N_5O_6S$计算的$[M+H]^+$是462.2;发现值是462.2。

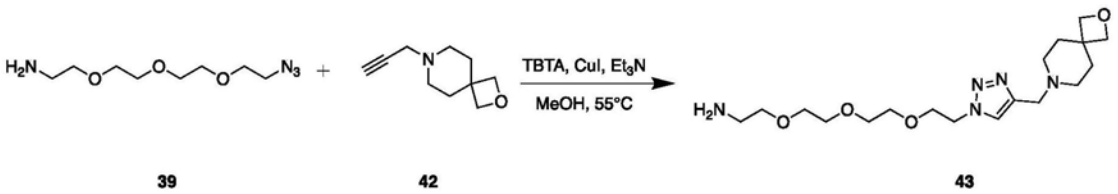
[0691] 7-(丙-2-炔-1-基)-2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷(42)的实验程序

[0692] 

42

[0693] 将3-溴-1-炔(4.4mL,39.32mmol,1.0当量)加入到2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷(8.54g,39.32mmol,1.0当量)、碳酸钾(17.9g,129.7mmol,3.3当量)在甲醇(200mL)中的混合物中并在室温下搅拌过夜。过滤混合物,添加硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/

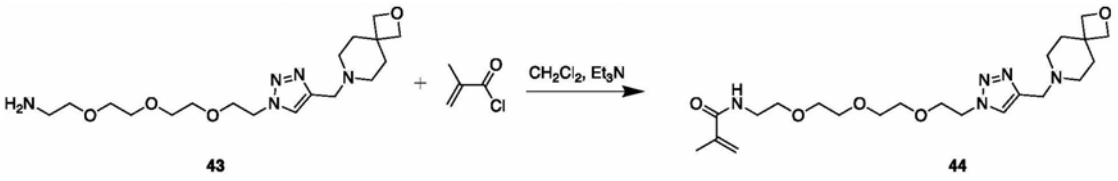
甲醇作为流动相，通过硅胶色谱(220g)纯化残余物。甲醇浓度从0％逐渐增加至5％，得到7-(丙-2-炔-1-基)-2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷(42，4.44g，68％)，为油状物。2-(2-(2-(2-(4-((2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬-7-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-胺(43)的实验程序

[0694] 

39 42 43

[0695] 将7-(丙-2-炔-1-基)-2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬烷(42，2.5g，15.13mmol，1.0当量)、三[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]-胺(1.77g，3.33mmol，0.22当量)、碘化铜(288mg，1.51mmol，0.1当量)和三乙胺(0.53mL，3.8mmol，0.25)在甲醇(50mL)中的混合物用冰浴冷却。以逐滴方式添加2-(2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-胺(39，3.86g，17.70mmol，1.17当量)，移去冷却浴，并且将混合物为搅拌5分钟。将反应温热至55℃并在氮气氛下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温，添加硅藻土(10g)，并减压浓缩。使用二氯甲烷/(含有12％(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相，在硅胶(220g)上纯化粗产物。(含有12％(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0％逐渐增加至10％，得到2-(2-(2-(2-(4-((2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬-7-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-胺(43，4.76g，82％)，为油状物。LCMS m/z:针对$C_{18}H_{33}N_5O_4$计算的$[M+H]^+$是384.3;发现值是384.2。

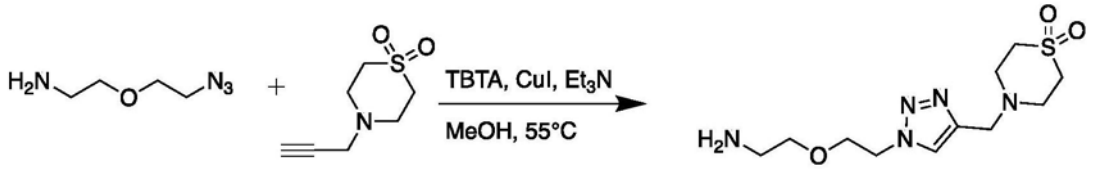
[0696] N-(2-(2-(2-(2-(4-((2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬-7-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)甲基丙烯酰胺(44)的实验程序

[0697] 

43 44

[0698] 在氮气氛下将2-(2-(2-(2-(4-((2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬-7-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙-1-胺(43，2.65g，6.91mmol，1.0当量)和三乙胺(1.16mL，8.29mmol，1.2当量)在CH_2Cl_2(100mL)中的溶液用冰浴冷却。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.74mL，7.6mmol，1.1当量)。移去冷却浴，并且将反应混合物在室温下搅拌4小时。添加10克硅藻土，并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/甲醇作为流动相，通过硅胶色谱(120g)纯化残余物。甲醇浓度从0％逐渐增加到10％，得到N-(2-(2-(2-(2-(4-((2-氧杂-7-氮杂螺[3.5]壬-7-基)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙氧基)乙基)甲基丙烯酰胺(44，1.50g，48％产率)，为无色油状物。LCMS m/z:针对$C_{22}H_{37}N_5O_5$计算的$[M+H]^+$是452.29;发现值是452.25。

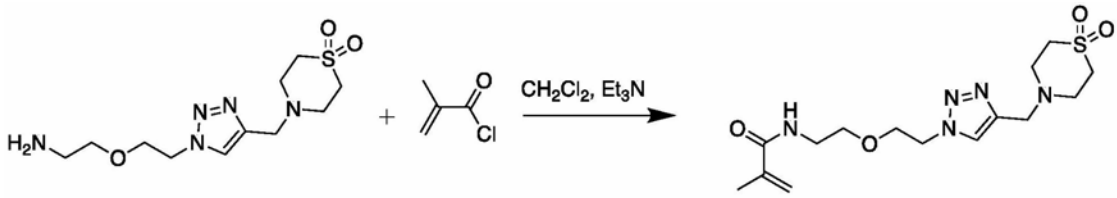
[0699] 4-((1-(2-(2-氨基乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(45)的实验程序

[0700] 

45

[0701] 将4-(丙-2-炔-1-基)硫代吗啉1,1-二氧化物(1.14g,6.58mmol,1.0当量)、三[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]-胺(768mg,1.45mmol,0.22当量)、碘化铜(125mg,0.66mmol,0.1当量)和三乙胺(0.23mL,1.65mmol,0.25当量)在甲醇(20mL)中的混合物用冰浴冷却。以逐滴方式添加2-(2-叠氮基乙氧基)乙-1-胺(1.00g,7.70mmol,1.17当量),移去冷却浴,并且将混合物为搅拌5分钟。将反应温热至55℃并在氮气氛下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,添加硅藻土(10g),并减压浓缩。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(40g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至9.5%,得到4-((1-(2-(2-氨基乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(45,1.86g,93%),为白色固体。LCMS m/z:针对$C_{11}H_{21}N_5O_4S$计算的$[M+H]^+$是304.1438;发现值是304.1445。

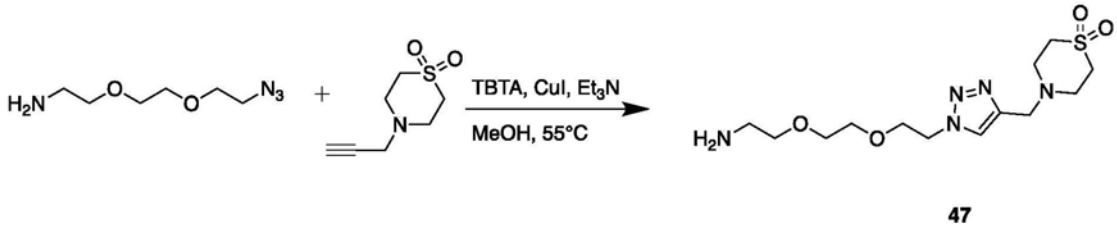
[0702] N-(2-(2-(4-((1,1-二氧化硫代吗啉)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙基)甲基丙烯酰胺(46)的实验程序

[0703] 

45 46

[0704] 在氮气氛下将4-((1-(2-(2-氨基乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(45,1.32g,4.35mmol,1.0当量)和三乙胺(0.73mL,5.22mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(100mL)中的溶液用冰浴冷却。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.47mL,4.8mmol,1.1当量)。移去冷却浴,并且将反应混合物在室温下搅拌4小时。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,通过硅胶色谱(120g)纯化残余物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至1.25%,得到N-(2-(2-(4-((1,1-二氧化硫代吗啉)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙基)-甲基丙烯酰胺(46,0.90g,56%产率),为无色油状物。LCMS m/z:针对$C_{15}H_{25}N_5O_4S$计算的$[M+H]^+$是372.17;发现值是372.15。

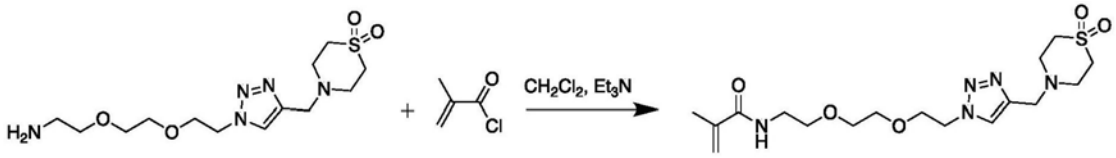
[0705] 4-((1-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(47)的实验程序

[0706] 

47

[0707] 将4-(丙-2-炔-1-基)硫代吗啉1,1-二氧化物(4.6g,26.55mmol,1.0当量)、三[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]-胺(3.1g,5.84mmol,0.22当量)、碘化铜(506mg,2.66mmol,0.1当量)和三乙胺(0.93mL,6.64mmol,0.25当量)在甲醇(80mL)中的混合物用冰浴冷却。以逐滴方式添加2-(2-(2-叠氮基乙氧基)乙氧基)乙-1-胺(5.00g,28.68mmol,1.08当量),移去冷却浴,并且将混合物为搅拌5分钟。将反应温热至55℃并在氮气氛下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,添加硅藻土,并减压浓缩。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(220g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加至10%,得到4-((1-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(47,5.26g,57%),为淡黄色固体。LCMSm/z:针对$C_{13}H_{25}N_5O_4S$计算的$[M+H]^+$是348.1700;发现值是348.1700。

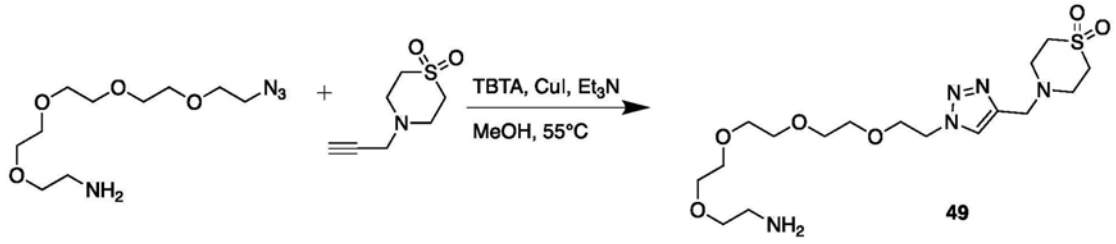
[0708] N-(2-(2-(2-(4-((1,1-二氧化硫代吗啉)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙基)甲基丙烯酰胺(48)的实验程序

[0709] 

47 48

[0710] 在氮气氛下将4-((1-(2-(2-(2-氨基乙氧基)乙氧基)乙基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(47,1.49g,4.29mmol,1.0当量)和三乙胺(0.72mL,5.15mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(50mL)中的溶液用冰浴冷却。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.46mL,4.7mmol,1.1当量)。移去冷却浴,并且将反应混合物在室温下搅拌4小时。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/甲醇作为流动相,通过硅胶色谱(80g)纯化残余物。甲醇浓度从0%逐渐增加到5%,得到N-(2-(2-(2-(4-((1,1-二氧化硫代吗啉)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)乙氧基)乙氧基)乙基)-甲基丙烯酰胺(48,0.67g,38%产率),为无色油状物。LCMS m/z:针对$C_{17}H_{29}N_5O_5S$计算的$[M+H]^+$是416.20;发现值是416.20。

[0711] 4-((1-(14-氨基-3,6,9,12-四氧杂十四基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(49)的实验程序

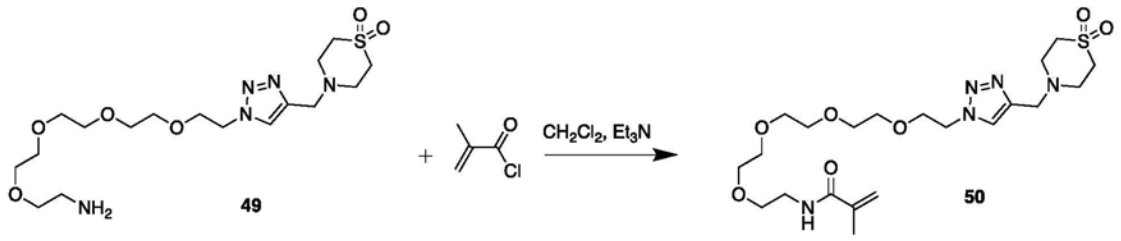
[0712] 

49

[0713] 将4-(丙-2-炔-1-基)硫代吗啉1,1-二氧化物(5.0g,28.86mmol,1.0当量)、三[(1-苄基-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基]-胺(3.37g,6.35mmol,0.22当量)、碘化铜(550mg,2.89mmol,0.1当量)和三乙胺(1.01mL,7.22mmol,0.25当量)在甲醇(90mL)中的混合物用冰浴冷却。以逐滴方式添加14-叠氮基-3,6,9,12-四氧杂十四烷-1-胺(8.86g,33.77mmol,1.17当量),移去冷却浴并将混合物搅拌5分钟。将反应温热至55℃并在氮气氛下搅拌过夜。将反应混合物冷却至室温,添加硅藻土(15g),并减压浓缩。使用二氯甲烷/(含有12%(v/v)氢氧化铵水溶液的甲醇)作为流动相,在硅胶(220g)上纯化粗产物。(含有12%(v/v)氢氧化

铵水溶液的甲醇)的浓度从0%逐渐增加到10%,得到4-((1-(14-氨基-3,6,9,12-四氧杂十四基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(49,7.56g,60%),为油状物。LCMS m/z:针对$C_{17}H_{33}N_5O_6S$计算的$[M+H]^+$是436.2224;发现值是436.2228。

[0714] N-(14-(4-((1,1-二氧化硫代吗啉)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-3,6,9,12-四氧杂十四基)甲基丙烯酰胺(50)的实验程序

[0715] 

[0716] 将4-((1-(14-氨基-3,6,9,12-四氧杂十四基)-1H-1,2,3-三唑-4-基)甲基)硫代吗啉1,1-二氧化物(49,1.95g,4.79mmol,1.0当量)和三乙胺(0.80mL,5.74mmol,1.2当量)在CH_2Cl_2(50mL)中的溶液在氮气氛下用冰浴冷却。以逐滴方式添加甲基丙烯酰氯(0.51mL,5.26mmol,1.1当量)。移去冷却浴,并且将反应混合物在室温下搅拌4小时。添加10克硅藻土,并且减压除去溶剂。使用二氯甲烷/甲醇作为流动相,通过硅胶色谱(80g)纯化残余物。甲醇浓度从0%逐渐增加至5%,得到N-(14-(4-((1,1-二氧化硫代吗啉)甲基)-1H-1,2,3-三唑-1-基)-3,6,9,12-四氧杂十四基)甲基丙烯酰胺(50,0.76g,32%产率),为无色油状物。LCMS m/z:针对$C_{21}H_{37}N_5O_7S$计算的$[M+H]^+$是504.25;发现值是504.20。

[0717] 实例2:示例性聚合物的化学修饰

[0718] 在形成颗粒(例如,本文所述的水凝胶胶囊)之前,可以用具有式(I)的化合物(或其药学上可接受的盐)对聚合物材料进行化学修饰。以上在实例1中概述了用于修饰聚合物材料的示例性化合物的合成方案。这些化合物或其他化合物可用于化学修饰任何聚合物材料。

[0719] 例如,在藻酸盐的情况下,藻酸盐羧酸被活化以与一个或多个胺官能化化合物偶联,以获得用去纤维化化合物(例如具有式(I)的化合物)修饰的藻酸盐。将藻酸盐聚合物溶于水(30mL/g聚合物)中,并用2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(0.5当量)和N-甲基吗啉(1当量)处理。向该混合物中添加目的化合物(例如,表2中所示的化合物101)在乙腈(0.3M)中的溶液。

[0720] 添加的化合物和偶联剂的量取决于与藻酸盐结合的化合物的所需浓度,例如共轭密度。化合物101的中等共轭密度通常为2%至5%N,而化合物101的高共轭密度通常为5.1%至8%N。为了制备CM-LMW-Alg-101-中等聚合物溶液,溶解的未经修饰的低分子量藻酸盐(近似MW<75kDa,G:M比≥1.5)用2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(5.1mmol/g藻酸盐)和N-甲基吗啉(10.2mmol/g藻酸盐)和化合物101(5.4mmol/g藻酸盐)处理。为制备CM-LMW-Alg-101-高聚合物溶液,溶解的未经修饰的低分子量藻酸盐(近似MW<75kDa,G:M比≥1.5)用2-氯-4,6-二甲氧基-1,3,5-三嗪(10.2mmol/g藻酸盐)和N-甲基吗啉(20.4mmol/g藻酸盐)和化合物101(10.8mmol/g藻酸盐)处理。

[0721] 将反应温热至55℃,保持16小时,然后冷却至室温,并且通过旋转蒸发轻轻浓缩,然后将残余物溶于水中。将混合物通过氰基修饰的硅胶床(Silicycle)过滤,并且将滤饼用水洗涤。然后将所得溶液彻底透析(10,000MWCO膜)并通过冷冻干燥浓缩藻酸盐溶液以提供

所希望的作为固体的化学修饰的藻酸盐或使用适于产生粘度为25cP至35cP的化学修饰的藻酸盐溶液的任何技术浓缩。

[0722] 化学修饰的藻酸盐的共轭密度通过针对氮的燃烧分析测量。通过将化学修饰的藻酸盐溶液对水(10,000MWCO膜)透析24小时,将水置换两次,然后冻干至恒重来制备样品。

[0723] 实例3:制备示例性藻酸盐溶液

[0724] 化学修饰的和未经修饰的海藻酸盐的70:30混合物。将低分子量藻酸盐(PRONOVA™VLVG藻酸盐,NovaMatrix,Sandvika,Norway,cat.#4200506,大约分子量<75kDa;G:M比≥1.5)用表2中的化合物101进行化学修饰,以产生化学修饰的低分子量藻酸盐(CM-LMW-Alg-101)溶液,其粘度为25cp至35cP。通过在0.9%盐水中以3%重量:体积溶解未经修饰的藻酸盐(PRONOVA™SLG100,NovaMatrix,Sandvika,Norway,cat。#4202106,近似分子量为150kDa-250kDa)制备高分子量的未经修饰的藻酸盐(U-HMW-Alg)的溶液。将CM-LMW-Alg溶液与U-HMW-Alg溶液以70%CM-LMW-Alg比30%U-HMW-Alg的体积比混合(此处称为70:30CM-Alg:UM-Alg溶液)。

[0725] 未经修饰的藻酸盐对照溶液。将未经修饰的中等分子量藻酸盐(SLG20,NovaMatrix,Sandvika,Norway,cat.#4202006,大约分子量为75-150kDa)以1.4%重量:体积溶解在0.9%盐水中以制备U-MMW-Alg溶液。

[0726] 实例4:培养用于作为单细胞包封的示例性细胞

[0727] 4A.ARPE-19细胞。培养这些RPE细胞,并且随后将其包封在一室或两室水凝胶毫胶囊中。可以根据本领域已知的任何方法培养ARPE-19细胞,例如根据以下方案。吸出75cm^{2}培养瓶中的ARPE-19细胞以除去培养基,用0.05%(w/v)胰蛋白酶/0.53mM EDTA溶液("胰蛋白酶EDTA")短暂冲洗细胞层以除去所有痕量的含有胰蛋白酶抑制剂的血清。向烧瓶中加入2-3mL胰蛋白酶/EDTA溶液,在倒置显微镜下观察细胞直至细胞层分散,通常在5-15分钟之间。为了避免结块,小心处理细胞并在分散期间对烧瓶的击打或摇动最小化。如果细胞没有分离,则将烧瓶置于37℃,以促进分散。一旦细胞分散,加入6-8mL完全生长培养基并通过温和移液吸出细胞。将细胞悬浮液转移到离心管中并以约125xg离心5-10分钟以除去胰蛋白酶EDTA。弃去上清液,并将细胞重新悬浮在新鲜生长培养基中。将适当等分的细胞悬浮液加入到新的培养容器中,将其在37℃下孵育。培养基每周更新2-3次。

[0728] 4B.HEK293F细胞。这些细胞(FreeStyle™293F(赛默飞世尔科学公司(Thermo Fisher Scientific),沃尔瑟姆,马萨诸塞州,美国)销售)使用125ml Erlenmeyer烧瓶在工作体积为25ml的FreeStyle 293表达培养基中生长。将烧瓶在37℃下在设定为125RPM的振荡器板上孵育。使细胞生长至2x10^{6}至3x10^{6}个细胞/ml之间的密度,此时将细胞重新接种至2x10^{5}至3x10^{5}个细胞/ml的密度,通常每3-4天接种一次。为了避免结块,小心处理细胞,置于50ml falcon管中并涡旋5-10秒以使细胞均匀性最大化。计数细胞密度后,将适当等份的细胞悬浮液加入新培养容器中。

[0729] 实例5:用于包封的细胞簇的制备

[0730] 使用AggreWell™球状体板(干细胞科技公司(STEMCELLTechnologies))和本文概述的方案制备示例性细胞(例如,ARPE-19细胞)的球状簇。在第1天,将冲洗溶液(4mL)加入到每个板中,并将板在大型离心机中以3,000RPM离心5分钟。通过移液管移除冲洗溶液,并添加4mL完全生长培养基。将ARPE-19细胞以所需的细胞密度接种到平板中并立即移液以防

止聚集，一般的经验法则是每孔390万个细胞将产生150μm直径的簇。将板以800RPM旋转3分钟，并将板置于培养箱中过夜。

[0731] 在第2天，将平板从孵育中移除。使用大口径移液管头，轻轻吸打细胞以移除球状体簇。通过40μm或80μm细胞过滤器过滤这些簇以除去外来分离的单细胞，然后在离心机中旋转2x1分钟。使用大口径移液管头轻轻地重新悬浮这些簇，并轻轻搅拌以将它们分布遍及整个介质或另一种材料(例如藻酸盐)。

[0732] 可替代地，使用以下方案制备ARPE-19球状体。在第1天，™在无菌组织培养罩中从包装中取出AggreWell板。向每个孔中™加入2mL Aggrewell冲洗溶液。将板以2,000g离心5分钟以除去气泡，并从孔中™除去AggreWell冲洗溶液。用2mL完全生长培养基冲洗每个孔，并向每个孔中加入在3.9mL完全生长培养基中的200万个ARPE-19细胞。将板以100g离心3分钟，并且然后将细胞在37℃下孵育48小时。在第3天，使用上述相同的方案去除球状体簇。

[0733] 实例6:一室和两室水凝胶胶囊的形成

[0734] 根据下述方案将单细胞悬浮液(如实例4中所述的ARPE-19细胞或HEK293F细胞)包封在一室或两室水凝胶胶囊中。

[0735] 在封装之前，将单细胞在1,400r.p.m离心1分钟并用无钙Krebs-Henseleit(KH)缓冲液(4.7mM Kcl,25mM HEPES,1.2mM KH_2PO_4,1.2mM $MgSO_4\times 7H_2O$,135mM NaCl,pH≈7.4,≈290mOsm)洗涤。洗涤后，再次离心细胞，吸出所有上清液。在一些实验中，然后将细胞沉淀以每毫升藻酸盐溶液的悬浮单细胞密度范围重悬于实例3中所述的70:30CM-Alg:UM-Alg溶液中。在一些实验中，细胞直接使用而没有悬浮(例如，稀释)在藻酸盐溶液中(“未稀释的细胞”)。

[0736] 在制备一室和两室水凝胶胶囊之前，通过使用无菌工艺通过0.2-μm过滤器过滤来对缓冲液和藻酸盐溶液进行灭菌。

[0737] 为了制备配置为直径约1.5mm的两室水凝胶毫胶囊的颗粒，如下设置静电液滴发生器:ES系列0-100kV,20瓦高压发电机(EQ系列，松山(Matsusada)，北卡罗莱纳州，美国)连接到同轴针头的顶部和底部(内腔22G，外腔18G，Ramé-Hart仪器公司(Ramé-Hart Instrument Co.)，Succasunna，新泽西州，美国)。将内腔连接到第一5ml Luer-lock注射器(BD公司，新泽西州，美国)，该注射器连接到垂直定向的注射泵(Pump 11Pico Plus，哈佛设备公司(Harvard Apparatus)，Holliston，马萨诸塞州，美国)。外腔通过鲁尔接头连接到第二5毫升Luer-lock注射器，该注射器连接到水平定向的第二注射泵(Pump 11Pico Plus)。当制备仅将细胞包封在内室中的两室胶囊时，将包含细胞的第一藻酸盐溶液(作为单细胞悬浮液)置于第一注射器中，并将缺乏细胞的第二藻酸盐溶液置于第二注射器中。两个注射泵使第一和第二藻酸盐溶液从注射器移动通过同轴针的两个腔，并且含有藻酸盐溶液的单个液滴从针头挤出到含有交联溶液的玻璃皿中。每个Pico Plus注射泵的设置直径为12.06mm，并且调节每个泵的流速以在下面的实例中实现各种测试流速，但保持总流速设定为10ml/h。

[0738] 为了制造直径约1.5mm的一室水凝胶胶囊，将实例3中描述的70:30CM-Alg:UM-Alg溶液(有或没有单细胞悬浮液)装入注射器中并用18号钝头针头(SAI融合技术公司(SAI Infusion Technologies))盖上。将注射器放入注射泵中，注射泵在含有交联缓冲液的培养皿上方垂直定向。高压发电机连接到针头并接地到生物安全柜。打开注射泵和发电机以通

过针头挤出藻酸盐溶液，流速为0.16mL/min或10mL/hr，并将电压调节在5-9kV范围内，直至出现液滴速率12滴/10秒。

[0739] 为了制备两室和一室的毫胶囊，在挤出所需体积的藻酸盐溶液后，将藻酸盐液滴在含有25mM HEPES缓冲液、20mM $BaCl_2$和0.2M甘露醇的交联溶液中交联5分钟。在一些实验中，交联溶液还含有0.01％的泊洛沙姆188。通过移液到锥形管中收集已落到交联容器底部的胶囊。在胶囊沉降在管中后，除去交联缓冲液，并洗涤胶囊。将不含有细胞的胶囊用HEPES缓冲液(NaCl 15.428g，KCl 0.70g，$MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.488g，0ml HEPES(1M)缓冲溶液(Gibco生命技术公司(Gibco,Life Technologies)，加利福尼亚州，美国)，在2升去离子水中)洗涤4次并储存在4℃直至使用。将包封细胞的胶囊在HEPES缓冲液中洗涤四次，在0.9％盐水中洗涤两次，在培养基中洗涤两次，并储存在37℃的培养箱中。

[0740] 在一些实验中，检查了两室或一室胶囊组合物中胶囊的质量。从组合物中取出含有至少200个胶囊的等分试样并转移到孔板中，并且通过光学显微镜通过计算总数中球形胶囊的数量检查整个等分试样的质量。

[0741] 在一些实验中，使用质地分析仪检查二室胶囊组合物中胶囊的机械强度，以确定如上所述的初始破裂力。

[0742] 实例7.评估细胞负载对胶囊质量的影响

[0743] 如实例6中所述，使用实例3中描述的70:30CM-Alg:UM-Alg溶液和用于形成第一(内)室的藻酸盐溶液中的各种负载量的细胞制备胶囊组合物(包含两室胶囊或一室胶囊)。交联溶液包含0.01％泊洛沙姆188。使用第一和第一注射器中的每一个中的5ml/小时藻酸盐溶液流速制备具有相等体积的第一和第二室的两室胶囊(直径1.5mm)，所述第一和第二室由70:30藻酸盐溶液形成。此外，以基本相同的方式制备两室1.5mm胶囊的组合物，除了在第一注射器中使用未稀释的细胞(浓度当量至5亿个细胞/ml)形成内室(例如，没有藻酸盐溶液。)将表达因子VIII的工程化的ARPE19细胞以1千万-5千万细胞/ml藻酸盐溶液包封在一室胶囊中或以1千万-5亿细胞/ml藻酸盐溶液(浓度相当于一室胶囊)包封在2室胶囊中。检查不同的胶囊组合物的质量，结果显示在图3中。

[0744] 对于一室毫胶囊，通常观察到胶囊质量(即球形)随着细胞负载的增加而降低。包含一室胶囊的组合物的质量低于检测的等分试样中95％球形颗粒细胞负载大于2000万个细胞/ml藻酸盐的可接受阈值。包含两室毫胶囊的组合物具有非常高的球形质量，直至相当于5亿个细胞/ml藻酸盐溶液的未稀释细胞的加载细胞量，这比一室颗粒的最高可接受细胞负载容量高约25倍的细胞负载容量。对于70:30CM-Alg:UM-Alg和胶囊尺寸的这种特殊配置，相当于5亿个细胞/ml藻酸盐溶液的细胞负载量似乎是第一(内部)室的上限负载。因此，两室毫胶囊允许包封显着更多数量的细胞而不影响胶囊的球形形态。

[0745] 实例8:改变流速比对第二室厚度的影响

[0746] 在两个室中用70:30的CM-Alg:U-Alg混合物制备含有两室水凝胶毫胶囊(直径约1.5mm)的组合物。通过外腔和内腔的藻酸盐溶液的组合流速保持恒定在10ml/h，同时改变这些流速的比例以制备具有不同室厚度的胶囊。为了使所得胶囊中的室可视化，将ARPE19-FVIII细胞以2000万个细胞/ml藻酸盐溶液包封在第一(内)室中。通过图像分析测量室厚度。

[0747] 通过改变外腔:内腔流速比，1.5mm两室胶囊的第二(外)室的平均厚度在11-267微

米之间变化，如图4A-4B所示。在所有情况下，形成约1.5mm的球形胶囊。产生的最小的第二(外)室直径约为11微米，并且增加外腔:内腔流速比将第二(外部)室厚度从约11微米增加到最大267微米。因此，可以通过改变内部和外部流速比来改变水凝胶胶囊的第二(外)室厚度，以产生均匀球形毫微囊的组合物。

[0748] 实例9:改变第一室的组成和尺寸对颗粒机械性能的影响

[0749] 如实例6中所述，通过同轴针头挤出第一和第二藻酸盐溶液来制备两室水凝胶毫胶囊的组合物。使用实例3中所述的70:30CM-Alg:U-Alg溶液制备第二(外)室，并使用实例3中所述的U-HMW-Alg溶液制备第一(内)室。在保持总流量(例如，组合)流速为10ml/h的同时，内:外流速比(I:O)在每小时1ml至9ml和每小时9ml至1ml之间变化，以产生具有不同内室和外室厚度的毫微囊。还制备了对照胶囊组合物。一个对照物含有由相同的70:30CM-Alg:U-Alg溶液制成的一室胶囊。第二对照组合物含有由相同的U-HMW-Alg溶液制成的一室胶囊。使用质地分析仪对来自每种组合物的等分试样进行机械测试，以测量各个胶囊的初始破裂。

[0750] 在所有条件下都产生直径约1.5mm的两室胶囊。与所有两室胶囊配置相比，由70:30混合物制备的一室胶囊具有最低的初始破裂。具有U-HMW-Alg内室的两室胶囊的机械强度随着内室相比于整个胶囊的体积分数增加而增加(参见图5)。第二对照组合物中的胶囊(一室U-HMW-Alg胶囊)具有比所有两室颗粒(其中内室和外室分别由U-HMW-Alg和70:30CM-Alg:U-Alg组成)更高的初始断裂。随着内室(U-HMW-Alg)的体积分数增加，平均初始破裂增加。因此，改变2室毫胶囊的内隔室的构造(藻酸盐和/或厚度的特性)可以改变其机械性能。因此，2室水凝胶毫胶囊可以在化学修饰方面呈现相同的胶囊表面(例如，以减轻FBR)，但是通过改变第一(内)室中的藻酸盐组成而具有更强的机械强度。

[0751] 实例10:制备在第2(外)室中具有不同量的化学修饰的二室水凝胶胶囊

[0752] 用化合物101的不同量的共轭制备化学修饰的藻酸盐溶液。制备具有低(2.03％N)、中等(4.42％N)或高(6.72％N)水平的化合物101共轭的聚合物，其中％氮通过燃烧分析测定并且对应于与聚合物共轭的小分子的量。如下制备二室水凝胶毫胶囊的组合物。使用以下形成外室:(i)含有这些共轭聚合物之一的溶液，所述共轭聚合物与U-HMW-Alg以70:30的CM-Alg-101:U-HMW-Alg比例共混或(ii)实例3中描述的作为对照的U-MMW-Alg溶液。使用含有与U-HMW-Alg共混的中等CM-Alg-101共轭物的溶液形成内室。内外流速均为5ml/h。为了使第一(内)室可视化，将2000万个ARPE19-FVIII细胞/ml藻酸盐溶液包封在胶囊的第一(内)室中。

[0753] 图6A-6D显示在第二(外)室中用低、中、高共轭CM-Alg聚合物或对照(未经修饰)聚合物产生的胶囊。无论使用哪种CM-A聚合物溶液形成外室，都形成直径约1.5mm的球形的均匀的微胶囊的组合物，证明可以使用在第一(内)室中使用的相同聚合物和在第二(外)室中的不同量的化学修饰来制备高质量胶囊。

[0754] 实例11:改变第二室中的化学修饰水平对生物相容性的影响

[0755] 通过将胶囊植入C57/BL6小鼠的IP空间中一周，检查实例10中制备的水凝胶胶囊的体内纤维化。在该小鼠模型中，包封的异种细胞系，例如人RPE细胞，通常诱导纤维化应答。在回收时，对颗粒进行成像以确定是否存在纤维化，并使用纹理分析仪测量初始破裂。结果显示在图7A-7F中。

[0756] 回收后，空胶囊(无细胞)没有可见的纤维化(图7D)。对照胶囊(U-MMW-Alg外室)具有围绕颗粒的纤维化累积(图7E)。对于在外室中具有CM-Alg-101的胶囊，仅在低共轭CM-Alg胶囊上观察到纤维化应答(图7A)，在中等以及高共轭CM-Alg胶囊上观察到最小纤维化(图7B-7C)。在植入前和回收时测量初始破裂，并且所有2室胶囊在每个时间点具有相似的初始破裂(图7F)。因此，仅在胶囊的第二(外)室上改变化学修饰分布可以用于调节去纤维化性质，即，增加外室中具有式I的化合物的浓度可以实质上减少纤维化而不影响机械强度。

[0757] 实例12:改变第二室中的化学修饰水平对巨噬细胞粘附随时间的影响

[0758] 如下检查在第二(外)室中具有不同量(低、中或高)的化学修饰的水凝胶胶囊上经1-4周的体内小鼠巨噬细胞粘附程度。如实例10中所述制备胶囊，并如实例11中那样植入C57/BL6小鼠中，然后在植入后1、2和4周回收。在回收时，使用免疫荧光染色(抗-F4/80)对颗粒针对小鼠巨噬细胞的存在进行成像。结果显示在图9A-9K中。

[0759] 植入1周后，在阳性对照胶囊(未经修饰的中等分子量藻酸盐)和低共轭胶囊(图9A-9B)上观察到巨噬细胞粘附。在中等共轭胶囊上观察到一些巨噬细胞粘附(图9C)，并且在高共轭(图9D)或空胶囊(图9E)上存在最小的巨噬细胞粘附。在植入后2周和4周，空胶囊上没有巨噬细胞粘附(图9H和9K)，并且与高共轭胶囊相比，中等共轭胶囊(图9F和9I)上的巨噬细胞粘附更高(图9G和9J)，证明了胶囊的第二(外)室中的化学修饰水平与体内巨噬细胞粘附(纤维化)之间的剂量应答。

[0760] 实例13:改变第二室中的化学修饰水平对纤维化的影响

[0761] 使用下述方法研究示例性颗粒的第二(外)室中的化学修饰水平对纤维化的影响。使用实例10中制备的低、中和高共轭胶囊。另外，使用实例10中描述的方法制备中高(4.79％N)和双高(9.00％N)共轭胶囊，其中％氮通过燃烧分析测定并且对应于与聚合物共轭的小分子的量。然后如实例11所述将胶囊植入C57/BL6小鼠中，并在植入后2周回收。用明场成像分析回收的胶囊的纤维化，其中胶囊周围的不透明层指示纤维化。结果显示在图10A-10E中。

[0762] 具有中等共轭的空胶囊用作对照，并且未显示纤维化(图10A)。与高共轭胶囊(图10D)相比，具有中等共轭或中高共轭的胶囊显示出更高水平的纤维化(图10B-10C)。许多双高共轭胶囊在回收后不是完整的球体，一些出现纤维化或尺寸减小，并且存在显著的胶囊碎片(图10E)。这表明含有高水平的具有式(I)化合物的第二(外)室不是完整的，这表明存在可以有效地抵抗纤维化的具有式(I)化合物的量的上限。

[0763] 实例14:改变第二室中的化学修饰水平对机械强度的影响

[0764] 使用质地分析仪通过初始破裂测量实例13中使用的胶囊的机械强度。在植入前和植入后阶段测试对照、中、中高、高和双高共轭胶囊中的每一个的机械强度。结果示于图11中。

[0765] 与负载细胞的胶囊相比，对照(空)胶囊中的初始机械强度更高。中、中高和高共轭胶囊在植入前和植入后具有相似的强度，其中植入后观察到的强度降低。具有最高共轭水平(双高)的胶囊是最弱的胶囊，并且这些胶囊中的大多数在回收时不是完整的(图11)，如实例13中所述。这进一步证明了有效的去纤维化小分子共轭的量存在上限，因为非常高的共轭水平损害了机械强度。

[0766] 实例15:第二(外)室的共价和非共价化学修饰对纤维化的影响

[0767] 使用以下实验测定水凝胶胶囊的第二(外)室中共轭或非共轭的具有式(I)的化合物之间作为赋予对纤维化的抗性手段的差异。

[0768] 如实例10中那样制备具有中等和高量的具有式(I)的化合物的胶囊。此外,以与实例10的方法类似的方式制备第三类型的胶囊,其特征在于非共轭的去纤维化小分子(表示为"回加胺"),其中胶囊的第二(外)室由含有未共轭的具有式(I)的化合物的藻酸盐溶液制成。通过将未共轭的小分子添加到中等共轭藻酸盐溶液中来制备该溶液,其中使用获得相当于高共轭藻酸盐溶液的具有式(I)的化合物的总量所必需的一定量的未共轭的小分子。将70:30CM-Alg:U-Alg用于"回加胺"胶囊的第一(内)室。然后如实例11中那样使用C57/BL6小鼠体内植入所有胶囊,并在植入后2周回收。用明视野显微镜对回收的胶囊进行成像,以检测粘附细胞的不透明外层(其表明纤维化的开始)的存在。结果显示在图12A-12C中。

[0769] 在中等共轭胶囊上观察到粘附细胞层(图12A),而仅观察到对高共轭胶囊的最小粘附(图12B)。"回加胺"胶囊也看起来不透明,表明胶囊上有纤维化细胞粘附层(图12C)。因此,该数据表明仅共轭的小分子有助于胶囊的去纤维化性质。

[0770] 实例16:第二室中不同水平的小分子共轭和聚合物共混比例对巨噬细胞粘附的影响

[0771] 用下列实验比较由两种聚合物共混物的藻酸盐溶液(含有不同比例的低分子量藻酸盐(CM-LMW)与未经修饰的高分子量藻酸盐(U-HMW))以及不同量(中、中高或高)的具有式(I)的化合物制备的胶囊的体内抗纤维化性。

[0772] 如实例3中所述,在中、中高或高水平的具有式(I)的化合物的情况下,在70%CM-LMW-Alg比30%U-HMW-Alg比例(70:30)下制备三种聚合物共混物。还在中、中高或高水平的具有式(I)的化合物的情况下,在60%CM-LMW-Alg比40%U-HMW-Alg比例(60:40)下制备另外三种聚合物共混物。然后使用实例10中描述的方法将每种聚合物共混物用于形成胶囊的第二(外)室,提供一组六个水凝胶胶囊,其特征在于具有来自70:30或60:40比例聚合物共混物的中、中高或高水平共轭。所有胶囊的内室含有70:30CM-Alg:U-Alg溶液。然后如实例11所述将胶囊体内植入,并在植入后1周回收,并通过免疫荧光染色分析胶囊上小鼠巨噬细胞的粘附(纤维化)。结果显示在图13A-13F中。

[0773] 在70:30(图13A-13C)和60:40比例共混物(图13D-13F)中,从中到高共轭胶囊观察到粘附的巨噬细胞水平降低的趋势。此外,在60:40比例的共混物胶囊中观察到更大量的粘附巨噬细胞,相比之下,胶囊中相对较低量的巨噬细胞粘附形成70:30比例共混物。由于比例的变化影响胶囊上小分子的总剂量,结果推断:与聚合物共轭的小分子的量和用于制备胶囊的化学修饰的聚合物的量可以独立地改变巨噬细胞粘附和纤维化。

[0774] 实例17:就纤维化应答比较胶囊结构

[0775] 通过挤出实例3中所述的具有各种细胞负载浓度的70:30CM-Alg:U-Alg溶液的液滴进入交联溶液来制备包封表达FVIII-BDD的单ARPE-19细胞的一室或二室水凝胶毫胶囊的组合物。制备无细胞或具有分散在整个胶囊中的5000个细胞的一室胶囊作为对照。二室胶囊具有无细胞的第二(外)室和含有5000或2500个细胞/胶囊的第一(内)室。使用外:内体积比为50%:50%制备具有2500和5000个细胞的胶囊。使用外:内体积比为75%:25%制备具有2500个细胞和更厚的第二(外)室的胶囊。将胶囊以0.5ml胶囊/小鼠植入C57/BL6小鼠

的IP空间。14天后回收胶囊并成像以观察纤维化的存在或不存在。在该小鼠模型中，预期胶囊中的异种ARPE-19细胞诱导FBR。

[0776] 该实验的结果显示，在C57/BL6小鼠模型中所有用一室或二室制造的包封ARPE-19细胞的胶囊被纤维化(数据未显示)。在空的一室对照胶囊上未观察到纤维化。因此，在C57/BL6小鼠中，作为一室或两室的胶囊构造对异种RPE细胞诱导的FBR没有明显影响。

[0777] 实例18:评估配置为二室水凝胶胶囊的示例性颗粒中的细胞增殖

[0778] 将悬浮生长的HEK293F细胞包封在直径约1.5mm的二室水凝胶微囊的内室内。使用实例3中所述的70:30CM-Alg:U-MW-Alg溶液制备胶囊，以形成内室和外室。内室中的细胞负载浓度为2000万个HEK293F细胞/ml(相当于1.5mm一室胶囊中的1000万个细胞/ml藻酸盐溶液)。使用5ml/h的内和外流速制造二室胶囊。作为对照，使用包含1000万个HEK293F细胞/ml的相同70:30CM-Alg:U-MW-Alg藻酸盐溶液制备直径约1.5mm的一室胶囊。将胶囊在37℃，5％CO_2下孵育7天，然后通过显微镜观察。

[0779] 对胶囊边缘的观察显示，在培养一周后，存在从一室胶囊但不是二室胶囊的边缘突出的细胞(图14A-9B)。在含有一室胶囊的组织培养板的表面上观察到自由漂浮和粘附的细胞，表明细胞的不完全包封和/或逃逸(图14C)。相反，在培养一周后，在培养板中的二室胶囊外没有观察到细胞(图14D)。当用ARPE19细胞代替HEK293F细胞制备一室和二室胶囊时，获得了类似的结果(数据未显示)。因此，二室胶囊比含有细胞的一室胶囊更有效，例如，没有细胞泄漏或通过胶囊表面突出。

[0780] 实例19:评估一室和二室胶囊的蛋白释放

[0781] 为了确定包封的细胞表达的蛋白分子是否可以从二室水凝胶胶囊中释放，将表达FVIII-BDD的工程化的ARPE19细胞包封在二室胶囊中，并在24小时后测量蛋白分泌。

[0782] 使用实例3中所述的70:30CM-alg:U-HMW-Alg溶液在第一和第二注射器中的每一个中以及5ml/h内和外流速制备胶囊。制备内室的藻酸盐溶液还含有2千万、5千万或1亿个细胞/ml的ARPE19-FVIII。将胶囊在37℃下在已知体积的培养基中孵育24小时，收集培养基上清液并通过FVIIIELISA检测FVIII。

[0783] 24小时后，对于每个细胞负载浓度在培养基上清液样品中检测FVIII。观察到细胞负载浓度与从2室颗粒中检测到的FVIII量之间的增加趋势(数据未显示)。这些结果表明，包封在两室胶囊的内室中的细胞表达的FVIII通过第二室扩散，然后离开胶囊。

[0784] 实例20.可以增加胶囊中的细胞浓度以增加裸鼠的血浆和IP流体中的FIX水平

[0785] 通过挤出实例3中所述的具有各种细胞负载浓度的70:30CM-Alg:U-Alg溶液的液滴进入交联溶液来制备包封单ARPE-19:FIX细胞的二室水凝胶毫胶囊(1.5mm)的组合物。将细胞以2百万、2千万、1亿、3亿个细胞/ml藻酸盐(相当于1.5mm一室胶囊中的1百万、1千万、5千万、1.5亿个细胞/ml藻酸盐溶液)包封在内室中。将胶囊植入裸鼠(0.5ml/小鼠)的IP空间中，并在5天后回收。通过ELISA测量血浆和IP流体中的FIX水平。

[0786] 通过改变包封的细胞浓度，包封的细胞的总数在500至39,000个细胞/胶囊之间变化，如图15A所示。在所有细胞浓度下，产生具有球形形态的胶囊(数据未显示)。在植入期间观察到一些细胞增殖(图15A)。血浆和IP流体中的FIX水平随着细胞浓度的增加而增加，除了2百万个细胞/ml，其处于ELISA测定的检测的下限(图15B,15C并且数据未显示)。与血浆相比，IP流体中的FIX水平增加约10倍，其中胶囊处于局部环境中。完整地回收所有细胞浓

度的胶囊(数据未显示)。因此,在用于形成内室的2M至300M个细胞/ml藻酸盐溶液之间观察到IP和血浆中FIX表达的剂量应答。此外,39,000个细胞/胶囊的成功包封显著大于科学文献中报道的内容。

[0787] 实例21:最佳细胞浓度使FIX水平最大化并保持胶囊完整性

[0788] 如前述实例中那样制备包封单ARPE-19:FIX细胞的二室水凝胶毫胶囊的组合物,其中以1亿、2亿、3亿、和6.46亿个细胞/ml藻酸盐溶液(相当于1.5mm一室胶囊中的5千万、1亿、1.5亿、3.23亿个细胞/ml藻酸盐溶液)包封细胞用于形成内室。将胶囊植入裸鼠的IP空间(0.5ml/小鼠)中,并在4周后回收。通过ELISA测量IP流体中的FIX水平。

[0789] 通过改变包封的细胞浓度,包封的细胞的总数在24,000至54,000个细胞/胶囊之间变化(数据未显示)。在所有细胞浓度下,产生具有球形形态的胶囊(数据未显示)。IP流体中的FIX水平随着细胞浓度增加至1.5亿个细胞/ml而增加(图16A)。在最高的负载细胞浓度(6.46个细胞/ml)下,FIX水平低并且回收的胶囊不再完整(图16B)。用1亿个细胞/ml制备的大多数胶囊具有最大数量的完整回收的胶囊(数据未显示)。这表明存在最佳细胞浓度,其中蛋白水平最大化并且胶囊保持其完整性。

[0790] 实例22:制备目标尺寸为0.75mm直径或1.0mm直径的二室胶囊

[0791] 如前述实例中所述制备具有1.0mm或0.75mm的胶囊目标尺寸的二室胶囊组合物,但具有以下调整。用于形成第二(外)室的藻酸盐溶液含有CM-Alg-101,其中化合物101(例如,如实例10中所述制备)的中等共轭水平与U-HMW-Alg以70:30的CM-Alg-101:U-HMW-Alg比例共混。使用经工程改造以表达人FVIII的ARPE19细胞悬浮液(每毫升5000万个细胞)的相同的共混藻酸盐溶液形成第一(内)室。使用以下产生胶囊目标尺寸为1.0mm胶囊的胶囊组合物:同轴针(20G OD/26G ID)、7.3kV的电压、第一和第二室流速各自为5mL/h,胶囊液滴率为30-35滴/10秒。使用以下产生目标尺寸为0.75mm的胶囊组合物:同轴针(20G OD/26G ID)、约7.5kV的电压、第一和第二室流速各自为5mL/h,并且胶囊液滴速率为35-40滴/10秒。

[0792] 如图18A-18B所示,制备在内室中具有细胞的球形0.75mm和1.0mm二室胶囊。这些胶囊具有外室,其将细胞完全包封在内室中。因此,可以制备平均直径为0.75和1.0mm的二室胶囊。

[0793] 等效物和范围

[0794] 本申请引用了不同发布的专利、出版的专利申请、杂志文章和其他出版物,将其全部通过引用以其整体并入本文。如果在任一个并入的参考文献和本说明书之间有冲突,以本说明书为准。另外,在现有技术之内的本披露的任何具体的实施例可以从任何一个或多个权利要求中明确排除。因为此类实施例被视为对于本领域的技术人员是已知的,因此它们可以被排除,即使该排除在本文没有被明确陈述。本披露的任何具体的实施例可以因为任何原因从任一权利要求中排除,不管是否与存在的现有技术相关。

[0795] 本领域的普通技术人员只使用常规实验就将认识到或能够确定本文描述的具体实施例的许多等效形式。本文描述的实施例的范围不旨在限制以上说明书、附图或实例,而是如在所附权利要求中所陈述的。本领域的普通技术人员要认识到的是,在不脱离如在以下权利要求中所定义的本披露的精神或范围下,可以对本说明书进行各种改变和修改。

序列表
<110> 西吉隆制药公司(SIGILON THERAPEUTICS, INC.)
<120> 可植入颗粒和相关方法
<130> S2225-7022WO
<140>
<141>
<150> 62/652,880
<151> 2018-04-04
<150> 62/737,838
<151> 2018-09-27
<150> 62/812,568
<151> 2017-03-01
<160> 36
<170> PatentIn 版本 3.5
<210> 1
<211> 1457
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(19)
<223> /注="信号序列"
<400> 1

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

85 90 95

Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser
100 105 110

His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser
115 120 125

Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp
130 135 140

Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu
145 150 155 160

Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser
165 170 175

Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile
180 185 190

Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr
195 200 205

Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly
210 215 220

Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp
225 230 235 240

Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr
245 250 255

Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val
260 265 270

Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile
275 280 285

Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser
290 295 300

Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met
305 310 315 320

Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His
325 330 335

Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro
340 345 350

Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp
355 360 365

Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser
370 375 380

Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr
385 390 395 400

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

705 710 715 720
Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp
725 730 735
Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys
740 745 750
Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu
755 760 765
Lys Arg His Gln Arg Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln
770 775 780
Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu
785 790 795 800
Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe
805 810 815
Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp
820 825 830
Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln
835 840 845
Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr
850 855 860
Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His
865 870 875 880
Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile
885 890 895
Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser
900 905 910
Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg
915 920 925
Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val
930 935 940
Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp
945 950 955 960
Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu
965 970 975
Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His
980 985 990
Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe
995 1000 1005
Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn
1010 1015 1020

Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys
1025 1030 1035
Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr
1040 1045 1050
Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr
1055 1060 1065
Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe
1070 1075 1080
Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met
1085 1090 1095
Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met
1100 1105 1110
Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly
1115 1120 1125
Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser
1130 1135 1140
Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg
1145 1150 1155
Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro
1160 1165 1170
Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser
1175 1180 1185
Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro
1190 1195 1200
Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe
1205 1210 1215
Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp
1220 1225 1230
Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu
1235 1240 1245
Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn
1250 1255 1260
Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro
1265 1270 1275
Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly
1280 1285 1290
Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys
1295 1300 1305
Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn

1310 1315 1320
Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln
1325 1330 1335
Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu
1340 1345 1350
Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val
1355 1360 1365
Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys
1370 1375 1380
Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu
1385 1390 1395
Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp
1400 1405 1410
Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr
1415 1420 1425
Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala
1430 1435 1440
Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr
1445 1450 1455

<210> 2
<211> 461
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(28)
<223> /注="信号序列"
<400> 2
Met Gln Arg Val Asn Met Ile Met Ala Glu Ser Pro Gly Leu Ile Thr
1 5 10 15
Ile Cys Leu Leu Gly Tyr Leu Leu Ser Ala Glu Cys Thr Val Phe Leu
20 25 30
Asp His Glu Asn Ala Asn Lys Ile Leu Asn Arg Pro Lys Arg Tyr Asn
35 40 45
Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg Glu Cys

50 55 60

Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe Glu Asn
65 70 75 80

Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Val Asp Gly Asp Gln
85 90 95

Cys Glu Ser Asn Pro Cys Leu Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp Asp Ile
100 105 110

Asn Ser Tyr Glu Cys Trp Cys Pro Phe Gly Phe Glu Gly Lys Asn Cys
115 120 125

Glu Leu Asp Val Thr Cys Asn Ile Lys Asn Gly Arg Cys Glu Gln Phe
130 135 140

Cys Lys Asn Ser Ala Asp Asn Lys Val Val Cys Ser Cys Thr Glu Gly
145 150 155 160

Tyr Arg Leu Ala Glu Asn Gln Lys Ser Cys Glu Pro Ala Val Pro Phe
165 170 175

Pro Cys Gly Arg Val Ser Val Ser Gln Thr Ser Lys Leu Thr Arg Ala
180 185 190

Glu Thr Val Phe Pro Asp Val Asp Tyr Val Asn Ser Thr Glu Ala Glu
195 200 205

Thr Ile Leu Asp Asn Ile Thr Gln Ser Thr Gln Ser Phe Asn Asp Phe
210 215 220

Thr Arg Val Val Gly Gly Glu Asp Ala Lys Pro Gly Gln Phe Pro Trp
225 230 235 240

Gln Val Val Leu Asn Gly Lys Val Asp Ala Phe Cys Gly Gly Ser Ile
245 250 255

Val Asn Glu Lys Trp Ile Val Thr Ala Ala His Cys Val Glu Thr Gly
260 265 270

Val Lys Ile Thr Val Val Ala Gly Glu His Asn Ile Glu Glu Thr Glu
275 280 285

His Thr Glu Gln Lys Arg Asn Val Ile Arg Ile Ile Pro His His Asn
290 295 300

Tyr Asn Ala Ala Ile Asn Lys Tyr Asn His Asp Ile Ala Leu Leu Glu
305 310 315 320

Leu Asp Glu Pro Leu Val Leu Asn Ser Tyr Val Thr Pro Ile Cys Ile
325 330 335

Ala Asp Lys Glu Tyr Thr Asn Ile Phe Leu Lys Phe Gly Ser Gly Tyr
340 345 350

Val Ser Gly Trp Gly Arg Val Phe His Lys Gly Arg Ser Ala Leu Val
355 360 365

Leu Gln Tyr Leu Arg Val Pro Leu Val Asp Arg Ala Thr Cys Leu Leu
370 375 380
Ser Thr Lys Phe Thr Ile Tyr Asn Asn Met Phe Cys Ala Gly Phe His
385 390 395 400
Glu Gly Gly Arg Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser Gly Gly Pro His Val
405 410 415
Thr Glu Val Glu Gly Thr Ser Phe Leu Thr Gly Ile Ile Ser Trp Gly
420 425 430
Glu Glu Cys Ala Met Lys Gly Lys Tyr Gly Ile Tyr Thr Lys Val Ser
435 440 445
Arg Tyr Val Asn Trp Ile Lys Glu Lys Thr Lys Leu Thr
450 455 460

<210> 3
<211> 1457
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(19)
<223> /注="信号序列"

<400> 3
Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe
1 5 10 15
Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser
20 25 30
Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg
35 40 45
Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val
50 55 60
Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile
65 70 75 80
Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln
85 90 95
Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser
100 105 110

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

420 425 430

Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met

435 440 445

Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu

450 455 460

Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu

465 470 475 480

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

485 490 495

His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys

500 505 510

Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe

515 520 525

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

530 535 540

Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg

545 550 555 560

Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu

565 570 575

Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val

580 585 590

Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu

595 600 605

Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp

610 615 620

Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val

625 630 635 640

Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp

645 650 655

Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe

660 665 670

Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr

675 680 685

Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro

690 695 700

Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly

705 710 715 720

Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp

725 730 735

Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys
740 745 750
Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu
755 760 765
Lys His His Gln Arg Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln
770 775 780
Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu
785 790 795 800
Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe
805 810 815
Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp
820 825 830
Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln
835 840 845
Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr
850 855 860
Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His
865 870 875 880
Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile
885 890 895
Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser
900 905 910
Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg
915 920 925
Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val
930 935 940
Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp
945 950 955 960
Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu
965 970 975
Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His
980 985 990
Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe
995 1000 1005
Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn
1010 1015 1020
Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys
1025 1030 1035
Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr

1040 1045 1050

Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr
1055 1060 1065

Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe
1070 1075 1080

Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met
1085 1090 1095

Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met
1100 1105 1110

Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly
1115 1120 1125

Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser
1130 1135 1140

Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg
1145 1150 1155

Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro
1160 1165 1170

Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser
1175 1180 1185

Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro
1190 1195 1200

Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe
1205 1210 1215

Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp
1220 1225 1230

Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu
1235 1240 1245

Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn
1250 1255 1260

Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro
1265 1270 1275

Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly
1280 1285 1290

Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys
1295 1300 1305

Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn
1310 1315 1320

Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln
1325 1330 1335

Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu
1340 1345 1350
Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val
1355 1360 1365
Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys
1370 1375 1380
Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu
1385 1390 1395
Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp
1400 1405 1410
Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr
1415 1420 1425
Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala
1430 1435 1440
Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr
1445 1450 1455

<210> 4
<211> 1457
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(19)
<223> /注="信号序列"

<400> 4
Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe
1 5 10 15
Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser
20 25 30
Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg
35 40 45
Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val
50 55 60
Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile
65 70 75 80

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

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

Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly
705 710 715 720
Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp
725 730 735
Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys
740 745 750
Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu
755 760 765
Lys Ala His Gln Ala Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln
770 775 780
Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu
785 790 795 800
Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe
805 810 815
Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp
820 825 830
Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln
835 840 845
Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr
850 855 860
Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His
865 870 875 880
Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile
885 890 895
Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser
900 905 910
Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg
915 920 925
Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val
930 935 940
Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp
945 950 955 960
Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu
965 970 975
Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His
980 985 990
Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe
995 1000 1005
Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn

1010 1015 1020

Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys
1025 1030 1035

Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr
1040 1045 1050

Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr
1055 1060 1065

Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe
1070 1075 1080

Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met
1085 1090 1095

Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met
1100 1105 1110

Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly
1115 1120 1125

Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser
1130 1135 1140

Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg
1145 1150 1155

Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro
1160 1165 1170

Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser
1175 1180 1185

Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro
1190 1195 1200

Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe
1205 1210 1215

Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp
1220 1225 1230

Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu
1235 1240 1245

Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn
1250 1255 1260

Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro
1265 1270 1275

Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly
1280 1285 1290

Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys
1295 1300 1305

Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn
1310 1315 1320
Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln
1325 1330 1335
Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu
1340 1345 1350
Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val
1355 1360 1365
Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys
1370 1375 1380
Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu
1385 1390 1395
Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp
1400 1405 1410
Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr
1415 1420 1425
Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala
1430 1435 1440
Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr
1445 1450 1455

<210> 5
<211> 1453
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(19)
<223> /注="信号序列"
<400> 5

Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe
1 5 10 15
Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser
20 25 30
Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg
35 40 45

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

355 360 365

Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser

370 375 380

Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr

385 390 395 400

Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro

405 410 415

Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn

420 425 430

Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met

435 440 445

Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu

450 455 460

Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu

465 470 475 480

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

485 490 495

His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys

500 505 510

Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe

515 520 525

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

530 535 540

Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg

545 550 555 560

Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu

565 570 575

Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val

580 585 590

Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu

595 600 605

Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp

610 615 620

Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val

625 630 635 640

Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp

645 650 655

Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe

660 665 670

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

980 985 990

Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr Lys

995 1000 1005

Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala Pro

1010 1015 1020

Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr Arg

1025 1030 1035

Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly Leu

1040 1045 1050

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

1055 1060 1065

Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His Val

1070 1075 1080

Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr Asn

1085 1090 1095

Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser Lys

1100 1105 1110

Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu His

1115 1120 1125

Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys Gln

1130 1135 1140

Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln Ile

1145 1150 1155

Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala Arg

1160 1165 1170

Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu Pro

1175 1180 1185

Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile His

1190 1195 1200

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

1205 1210 1215

Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys Trp

1220 1225 1230

Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe Phe

1235 1240 1245

Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn Pro

1250 1255 1260

Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr Ser

1265 1270 1275

Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu Asn
1280 1285 1290
Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser Asp
1295 1300 1305
Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala Thr
1310 1315 1320
Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser Asn
1325 1330 1335
Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln Val
1340 1345 1350
Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln Gly
1355 1360 1365
Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu Ile
1370 1375 1380
Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln Asn
1385 1390 1395
Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr Pro
1400 1405 1410
Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu Arg
1415 1420 1425
Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met Glu
1430 1435 1440
Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr
1445 1450

<210> 6
<211> 1454
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(19)
<223> /注="信号序列"
<400> 6
Met Gln Ile Glu Leu Ser Thr Cys Phe Phe Leu Cys Leu Leu Arg Phe
1 5 10 15

Cys Phe Ser Ala Thr Arg Arg Tyr Tyr Leu Gly Ala Val Glu Leu Ser
20 25 30
Trp Asp Tyr Met Gln Ser Asp Leu Gly Glu Leu Pro Val Asp Ala Arg
35 40 45
Phe Pro Pro Arg Val Pro Lys Ser Phe Pro Phe Asn Thr Ser Val Val
50 55 60
Tyr Lys Lys Thr Leu Phe Val Glu Phe Thr Asp His Leu Phe Asn Ile
65 70 75 80
Ala Lys Pro Arg Pro Pro Trp Met Gly Leu Leu Gly Pro Thr Ile Gln
85 90 95
Ala Glu Val Tyr Asp Thr Val Val Ile Thr Leu Lys Asn Met Ala Ser
100 105 110
His Pro Val Ser Leu His Ala Val Gly Val Ser Tyr Trp Lys Ala Ser
115 120 125
Glu Gly Ala Glu Tyr Asp Asp Gln Thr Ser Gln Arg Glu Lys Glu Asp
130 135 140
Asp Lys Val Phe Pro Gly Gly Ser His Thr Tyr Val Trp Gln Val Leu
145 150 155 160
Lys Glu Asn Gly Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu Cys Leu Thr Tyr Ser
165 170 175
Tyr Leu Ser His Val Asp Leu Val Lys Asp Leu Asn Ser Gly Leu Ile
180 185 190
Gly Ala Leu Leu Val Cys Arg Glu Gly Ser Leu Ala Lys Glu Lys Thr
195 200 205
Gln Thr Leu His Lys Phe Ile Leu Leu Phe Ala Val Phe Asp Glu Gly
210 215 220
Lys Ser Trp His Ser Glu Thr Lys Asn Ser Leu Met Gln Asp Arg Asp
225 230 235 240
Ala Ala Ser Ala Arg Ala Trp Pro Lys Met His Thr Val Asn Gly Tyr
245 250 255
Val Asn Arg Ser Leu Pro Gly Leu Ile Gly Cys His Arg Lys Ser Val
260 265 270
Tyr Trp His Val Ile Gly Met Gly Thr Thr Pro Glu Val His Ser Ile
275 280 285
Phe Leu Glu Gly His Thr Phe Leu Val Arg Asn His Arg Gln Ala Ser
290 295 300
Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met
305 310 315 320
Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His

325 330 335
Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro
340 345 350
Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp
355 360 365
Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser
370 375 380
Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr
385 390 395 400
Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro
405 410 415
Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn
420 425 430
Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met
435 440 445
Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu
450 455 460
Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu
465 470 475 480
Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro
485 490 495
His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys
500 505 510
Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe
515 520 525
Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp
530 535 540
Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg
545 550 555 560
Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu
565 570 575
Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val
580 585 590
Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu
595 600 605
Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp
610 615 620
Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val
625 630 635 640

Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp
645 650 655
Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe
660 665 670
Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr
675 680 685
Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro
690 695 700
Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly
705 710 715 720
Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp
725 730 735
Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys
740 745 750
Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Pro Pro Val Leu
755 760 765
Lys Arg Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp Gln Glu Glu Ile
770 775 780
Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys Glu Asp Phe Asp
785 790 795 800
Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser Phe Gln Lys Lys
805 810 815
Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu Trp Asp Tyr Gly
820 825 830
Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala Gln Ser Gly Ser
835 840 845
Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe Thr Asp Gly Ser
850 855 860
Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu His Leu Gly Leu
865 870 875 880
Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn Ile Met Val Thr
885 890 895
Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr Ser Ser Leu Ile
900 905 910
Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro Arg Lys Asn Phe
915 920 925
Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys Val Gln His His
930 935 940
Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala Trp Ala Tyr Phe

945 950 955 960
Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly Leu Ile Gly Pro
965 970 975
Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala His Gly Arg Gln
980 985 990
Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr Ile Phe Asp Glu Thr
995 1000 1005
Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu Arg Asn Cys Arg Ala
1010 1015 1020
Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr Phe Lys Glu Asn Tyr
1025 1030 1035
Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met Asp Thr Leu Pro Gly
1040 1045 1050
Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg Trp Tyr Leu Leu Ser
1055 1060 1065
Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile His Phe Ser Gly His
1070 1075 1080
Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr Lys Met Ala Leu Tyr
1085 1090 1095
Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val Glu Met Leu Pro Ser
1100 1105 1110
Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu Ile Gly Glu His Leu
1115 1120 1125
His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val Tyr Ser Asn Lys Cys
1130 1135 1140
Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His Ile Arg Asp Phe Gln
1145 1150 1155
Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp Ala Pro Lys Leu Ala
1160 1165 1170
Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala Trp Ser Thr Lys Glu
1175 1180 1185
Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu Ala Pro Met Ile Ile
1190 1195 1200
His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln Lys Phe Ser Ser Leu
1205 1210 1215
Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser Leu Asp Gly Lys Lys
1220 1225 1230
Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly Thr Leu Met Val Phe
1235 1240 1245

Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys His Asn Ile Phe Asn
1250 1255 1260
Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu His Pro Thr His Tyr
1265 1270 1275
Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu Met Gly Cys Asp Leu
1280 1285 1290
Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu Ser Lys Ala Ile Ser
1295 1300 1305
Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe Thr Asn Met Phe Ala
1310 1315 1320
Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His Leu Gln Gly Arg Ser
1325 1330 1335
Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro Lys Glu Trp Leu Gln
1340 1345 1350
Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr Gly Val Thr Thr Gln
1355 1360 1365
Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr Val Lys Glu Phe Leu
1370 1375 1380
Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp Thr Leu Phe Phe Gln
1385 1390 1395
Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn Gln Asp Ser Phe Thr
1400 1405 1410
Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu Leu Thr Arg Tyr Leu
1415 1420 1425
Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln Ile Ala Leu Arg Met
1430 1435 1440
Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu Tyr
1445 1450

<210> 7
<211> 1474
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(19)

<223> /注="信号序列"

<400> 7

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

290 295 300

Leu Glu Ile Ser Pro Ile Thr Phe Leu Thr Ala Gln Thr Leu Leu Met
305 310 315 320

Asp Leu Gly Gln Phe Leu Leu Phe Cys His Ile Ser Ser His Gln His
325 330 335

Asp Gly Met Glu Ala Tyr Val Lys Val Asp Ser Cys Pro Glu Glu Pro
340 345 350

Gln Leu Arg Met Lys Asn Asn Glu Glu Ala Glu Asp Tyr Asp Asp Asp
355 360 365

Leu Thr Asp Ser Glu Met Asp Val Val Arg Phe Asp Asp Asp Asn Ser
370 375 380

Pro Ser Phe Ile Gln Ile Arg Ser Val Ala Lys Lys His Pro Lys Thr
385 390 395 400

Trp Val His Tyr Ile Ala Ala Glu Glu Glu Asp Trp Asp Tyr Ala Pro
405 410 415

Leu Val Leu Ala Pro Asp Asp Arg Ser Tyr Lys Ser Gln Tyr Leu Asn
420 425 430

Asn Gly Pro Gln Arg Ile Gly Arg Lys Tyr Lys Lys Val Arg Phe Met
435 440 445

Ala Tyr Thr Asp Glu Thr Phe Lys Thr Arg Glu Ala Ile Gln His Glu
450 455 460

Ser Gly Ile Leu Gly Pro Leu Leu Tyr Gly Glu Val Gly Asp Thr Leu
465 470 475 480

Leu Ile Ile Phe Lys Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Asn Ile Tyr Pro
485 490 495

His Gly Ile Thr Asp Val Arg Pro Leu Tyr Ser Arg Arg Leu Pro Lys
500 505 510

Gly Val Lys His Leu Lys Asp Phe Pro Ile Leu Pro Gly Glu Ile Phe
515 520 525

Lys Tyr Lys Trp Thr Val Thr Val Glu Asp Gly Pro Thr Lys Ser Asp
530 535 540

Pro Arg Cys Leu Thr Arg Tyr Tyr Ser Ser Phe Val Asn Met Glu Arg
545 550 555 560

Asp Leu Ala Ser Gly Leu Ile Gly Pro Leu Leu Ile Cys Tyr Lys Glu
565 570 575

Ser Val Asp Gln Arg Gly Asn Gln Ile Met Ser Asp Lys Arg Asn Val
580 585 590

Ile Leu Phe Ser Val Phe Asp Glu Asn Arg Ser Trp Tyr Leu Thr Glu
595 600 605

Asn Ile Gln Arg Phe Leu Pro Asn Pro Ala Gly Val Gln Leu Glu Asp
610 615 620
Pro Glu Phe Gln Ala Ser Asn Ile Met His Ser Ile Asn Gly Tyr Val
625 630 635 640
Phe Asp Ser Leu Gln Leu Ser Val Cys Leu His Glu Val Ala Tyr Trp
645 650 655
Tyr Ile Leu Ser Ile Gly Ala Gln Thr Asp Phe Leu Ser Val Phe Phe
660 665 670
Ser Gly Tyr Thr Phe Lys His Lys Met Val Tyr Glu Asp Thr Leu Thr
675 680 685
Leu Phe Pro Phe Ser Gly Glu Thr Val Phe Met Ser Met Glu Asn Pro
690 695 700
Gly Leu Trp Ile Leu Gly Cys His Asn Ser Asp Phe Arg Asn Arg Gly
705 710 715 720
Met Thr Ala Leu Leu Lys Val Ser Ser Cys Asp Lys Asn Thr Gly Asp
725 730 735
Tyr Tyr Glu Asp Ser Tyr Glu Asp Ile Ser Ala Tyr Leu Leu Ser Lys
740 745 750
Asn Asn Ala Ile Glu Pro Arg Ser Phe Ser Gln Asn Ala Thr Asn Val
755 760 765
Ser Asn Asn Ser Asn Thr Ser Asn Asp Ser Asn Val Ser Pro Pro Val
770 775 780
Leu Lys Arg His Gln Arg Glu Ile Thr Arg Thr Thr Leu Gln Ser Asp
785 790 795 800
Gln Glu Glu Ile Asp Tyr Asp Asp Thr Ile Ser Val Glu Met Lys Lys
805 810 815
Glu Asp Phe Asp Ile Tyr Asp Glu Asp Glu Asn Gln Ser Pro Arg Ser
820 825 830
Phe Gln Lys Lys Thr Arg His Tyr Phe Ile Ala Ala Val Glu Arg Leu
835 840 845
Trp Asp Tyr Gly Met Ser Ser Ser Pro His Val Leu Arg Asn Arg Ala
850 855 860
Gln Ser Gly Ser Val Pro Gln Phe Lys Lys Val Val Phe Gln Glu Phe
865 870 875 880
Thr Asp Gly Ser Phe Thr Gln Pro Leu Tyr Arg Gly Glu Leu Asn Glu
885 890 895
His Leu Gly Leu Leu Gly Pro Tyr Ile Arg Ala Glu Val Glu Asp Asn
900 905 910
Ile Met Val Thr Phe Arg Asn Gln Ala Ser Arg Pro Tyr Ser Phe Tyr

915 920 925

Ser Ser Leu Ile Ser Tyr Glu Glu Asp Gln Arg Gln Gly Ala Glu Pro

930 935 940

Arg Lys Asn Phe Val Lys Pro Asn Glu Thr Lys Thr Tyr Phe Trp Lys

945 950 955 960

Val Gln His His Met Ala Pro Thr Lys Asp Glu Phe Asp Cys Lys Ala

965 970 975

Trp Ala Tyr Phe Ser Asp Val Asp Leu Glu Lys Asp Val His Ser Gly

980 985 990

Leu Ile Gly Pro Leu Leu Val Cys His Thr Asn Thr Leu Asn Pro Ala

995 1000 1005

His Gly Arg Gln Val Thr Val Gln Glu Phe Ala Leu Phe Phe Thr

1010 1015 1020

Ile Phe Asp Glu Thr Lys Ser Trp Tyr Phe Thr Glu Asn Met Glu

1025 1030 1035

Arg Asn Cys Arg Ala Pro Cys Asn Ile Gln Met Glu Asp Pro Thr

1040 1045 1050

Phe Lys Glu Asn Tyr Arg Phe His Ala Ile Asn Gly Tyr Ile Met

1055 1060 1065

Asp Thr Leu Pro Gly Leu Val Met Ala Gln Asp Gln Arg Ile Arg

1070 1075 1080

Trp Tyr Leu Leu Ser Met Gly Ser Asn Glu Asn Ile His Ser Ile

1085 1090 1095

His Phe Ser Gly His Val Phe Thr Val Arg Lys Lys Glu Glu Tyr

1100 1105 1110

Lys Met Ala Leu Tyr Asn Leu Tyr Pro Gly Val Phe Glu Thr Val

1115 1120 1125

Glu Met Leu Pro Ser Lys Ala Gly Ile Trp Arg Val Glu Cys Leu

1130 1135 1140

Ile Gly Glu His Leu His Ala Gly Met Ser Thr Leu Phe Leu Val

1145 1150 1155

Tyr Ser Asn Lys Cys Gln Thr Pro Leu Gly Met Ala Ser Gly His

1160 1165 1170

Ile Arg Asp Phe Gln Ile Thr Ala Ser Gly Gln Tyr Gly Gln Trp

1175 1180 1185

Ala Pro Lys Leu Ala Arg Leu His Tyr Ser Gly Ser Ile Asn Ala

1190 1195 1200

Trp Ser Thr Lys Glu Pro Phe Ser Trp Ile Lys Val Asp Leu Leu

1205 1210 1215

Ala Pro Met Ile Ile His Gly Ile Lys Thr Gln Gly Ala Arg Gln
1220 1225 1230
Lys Phe Ser Ser Leu Tyr Ile Ser Gln Phe Ile Ile Met Tyr Ser
1235 1240 1245
Leu Asp Gly Lys Lys Trp Gln Thr Tyr Arg Gly Asn Ser Thr Gly
1250 1255 1260
Thr Leu Met Val Phe Phe Gly Asn Val Asp Ser Ser Gly Ile Lys
1265 1270 1275
His Asn Ile Phe Asn Pro Pro Ile Ile Ala Arg Tyr Ile Arg Leu
1280 1285 1290
His Pro Thr His Tyr Ser Ile Arg Ser Thr Leu Arg Met Glu Leu
1295 1300 1305
Met Gly Cys Asp Leu Asn Ser Cys Ser Met Pro Leu Gly Met Glu
1310 1315 1320
Ser Lys Ala Ile Ser Asp Ala Gln Ile Thr Ala Ser Ser Tyr Phe
1325 1330 1335
Thr Asn Met Phe Ala Thr Trp Ser Pro Ser Lys Ala Arg Leu His
1340 1345 1350
Leu Gln Gly Arg Ser Asn Ala Trp Arg Pro Gln Val Asn Asn Pro
1355 1360 1365
Lys Glu Trp Leu Gln Val Asp Phe Gln Lys Thr Met Lys Val Thr
1370 1375 1380
Gly Val Thr Thr Gln Gly Val Lys Ser Leu Leu Thr Ser Met Tyr
1385 1390 1395
Val Lys Glu Phe Leu Ile Ser Ser Ser Gln Asp Gly His Gln Trp
1400 1405 1410
Thr Leu Phe Phe Gln Asn Gly Lys Val Lys Val Phe Gln Gly Asn
1415 1420 1425
Gln Asp Ser Phe Thr Pro Val Val Asn Ser Leu Asp Pro Pro Leu
1430 1435 1440
Leu Thr Arg Tyr Leu Arg Ile His Pro Gln Ser Trp Val His Gln
1445 1450 1455
Ile Ala Leu Arg Met Glu Val Leu Gly Cys Glu Ala Gln Asp Leu
1460 1465 1470
Tyr

<210> 8

<211> 4374

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<221> 来源

<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"

<400> 8

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60
accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120
ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180
acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240
gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300
gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctgtt 360
ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420
gagaaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480
aaagagaatg gtccaatggc ctctgaccca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540
gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcattggag ccctactagt atgtagagaa 600
gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660
tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720
gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780
ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840
accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaaccat 900
cgccaggcgt ccttggaaat ctcgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960
gaccttggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacatga tggcatggaa 1020
gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaaccccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080
gaagcggaag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140
gatgacaact ctccttcctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200
tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260
cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320
aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct 1380
attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440
ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctaccctca cggaatcact 1500
gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaaggtg taaaacattt gaaggatttt 1560
ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620
actaaatcag atcctcggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga 1680
gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa 1740
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800
aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgctttc tccccaatcc agctggagtg 1860
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatgtt 1920
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980
attggagcac agactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa 2040

atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg 2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc 2160
atgaccgcct tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac 2220
agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc 2280
ttctcccaaa acccaccagt cttgaaacgc catcaacggg aaataactcg tactactctt 2340
cagtcagatc aagaggaaat tgactatgat gataccatat cagttgaaat gaagaaggaa 2400
gattttgaca tttatgatga ggatgaaaat cagagccccc gcagctttca aaagaaaaca 2460
cgacactatt ttattgctgc agtggagagg ctctgggatt atgggatgag tagctcccca 2520
catgttctaa gaaacagggc tcagagtggc agtgtccctc agttcaagaa agttgttttc 2580
caggaattta ctgatggctc ctttactcag cccttatacc gtggagaact aaatgaacat 2640
ttgggactcc tggggccata tataagagca gaagttgaag ataatatcat ggtaactttc 2700
agaaatcagg cctctcgtcc ctattccttc tattctagcc ttatttctta tgaggaagat 2760
cagaggcaag gagcagaacc tagaaaaaac tttgtcaagc ctaatgaaac caaaacttac 2820
ttttggaaag tgcaacatca tatggcaccc actaaagatg agtttgactg caaagcctgg 2880
gcttatttct ctgatgttga cctggaaaaa gatgtgcact caggcctgat tggacccctt 2940
ctggtctgcc acactaacac actgaaccct gctcatggga gacaagtgac agtacaggaa 3000
tttgctctgt ttttcaccat ctttgatgag accaaaagct ggtacttcac tgaaaatatg 3060
gaaagaaact gcagggctcc ctgcaatatc cagatggaag atcccacttt taaagagaat 3120
tatcgcttcc atgcaatcaa tggctacata atggatacac tacctggctt agtaatggct 3180
caggatcaaa ggattcgatg gtatctgctc agcatgggca gcaatgaaaa catccattct 3240
attcatttca gtggacatgt gttcactgta cgaaaaaaag aggagtataa aatggcactg 3300
tacaatctct atccaggtgt ttttgagaca gtggaaatgt taccatccaa agctggaatt 3360
tggcgggtgg aatgccttat tggcgagcat ctacatgctg ggatgagcac acttttctg 3420
gtgtacagca ataagtgtca gactcccctg ggaatggctt ctggacacat tagagatttt 3480
cagattacag cttcaggaca atatggacag tgggccccaa agctggccag acttcattat 3540
tccggatcaa tcaatgcctg gagcaccaag gagccctttt cttggatcaa ggtggatctg 3600
ttggcaccaa tgattattca cggcatcaag acccagggtg cccgtcagaa gttctccagc 3660
ctctacatct ctcagtttat catcatgtat agtcttgatg ggaagaagtg gcagacttat 3720
cgaggaaatt ccactggaac cttaatggtc ttctttggca atgtggattc atctgggata 3780
aaacacaata tttttaaccc tccaattatt gctcgataca tccgtttgca cccaactcat 3840
tatagcattc gcagcactct tcgcatggag ttgatgggct gtgatttaaa tagttgcagc 3900
atgccattgg gaatggagag taaagcaata tcagatgcac agattactgc ttcatcctac 3960
tttaccaata tgtttgccac ctggtctcct tcaaaagctc gacttcacct ccaagggagg 4020
agtaatgcct ggagacctca ggtgaataat ccaaaagagt ggctgcaagt ggacttccag 4080
aagacaatga aagtcacagg agtaactact cagggagtaa aatctctgct taccagcatg 4140
tatgtgaagg agttcctcat ctccagcagt caagatggcc atcagtggac tctcttttt 4200
cagaatggca aagtaaaggt ttttcaggga aatcaagact ccttcacacc tgtggtgaac 4260
tctctagacc caccgttact gactcgctac cttcgaattc acccccagag ttgggtgcac 4320
cagattgccc tgaggatgga ggttctgggc tgcgaggcac aggacctcta ctga 4374

<210> 9
<211> 4374
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 9

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60
accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120
ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180
acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240
gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300
gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctgtt 360
ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420
gagaaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480
aaagagaatg gtccaatggc ctctgaccca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540
gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcattggag ccctactagt atgtagagaa 600
gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660
tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720
gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780
ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840
accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaaccat 900
cgccaggcgt ccttggaaat ctcgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960
gaccttggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacatga tggcatggaa 1020
gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaaccccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080
gaagcggaag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140
gatgacaact ctccttcctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200
tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260
cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320
aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct 1380
attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440
ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctaccctca cggaatcact 1500
gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaaggtg taaaacattt gaaggatttt 1560
ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620
actaaatcag atcctcggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga 1680
gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa 1740
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800

aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgctttc tccccaatcc agctggagtg 1860
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatgtt 1920
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980
attggagcac agactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa 2040
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg 2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc 2160
atgaccgcct tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac 2220
agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc 2280
ttctcccaaa acccaccagt cttgaaacac catcaacggg aaataactcg tactactctt 2340
cagtcagatc aagaggaaat tgactatgat gataccatat cagttgaaat gaagaaggaa 2400
gattttgaca tttatgatga ggatgaaaat cagagccccc gcagctttca aaagaaaaca 2460
cgacactatt ttattgctgc agtggagagg ctctgggatt atgggatgag tagctcccca 2520
catgttctaa gaaacagggc tcagagtggc agtgtccctc agttcaagaa agttgttttc 2580
caggaattta ctgatggctc ctttactcag cccttatacc gtggagaact aaatgaacat 2640
ttgggactcc tggggccata tataagagca gaagttgaag ataatatcat ggtaactttc 2700
agaaatcagg cctctcgtcc ctattccttc tattctagcc ttatttctta tgaggaagat 2760
cagaggcaag gagcagaacc tagaaaaaac tttgtcaagc ctaatgaaac caaaacttac 2820
ttttggaaag tgcaacatca tatggcaccc actaaagatg agtttgactg caaagcctgg 2880
gcttatttct ctgatgttga cctggaaaaa gatgtgcact caggcctgat tggacccctt 2940
ctggtctgcc acactaacac actgaaccct gctcatggga gacaagtgac agtacaggaa 3000
tttgctctgt ttttcaccat ctttgatgag accaaaagct ggtacttcac tgaaaatatg 3060
gaaagaaact gcagggctcc ctgcaatatc cagatggaag atcccacttt taaagagaat 3120
tatcgcttcc atgcaatcaa tggctacata atggatacac tacctggctt agtaatggct 3180
caggatcaaa ggattcgatg gtatctgctc agcatgggca gcaatgaaaa catccattct 3240
attcatttca gtggacatgt gttcactgta cgaaaaaaag aggagtataa aatggcactg 3300
tacaatctct atccaggtgt ttttgagaca gtggaaatgt taccatccaa agctggaatt 3360
tggcgggtgg aatgccttat tggcgagcat ctacatgctg ggatgagcac acttttctg 3420
gtgtacagca ataagtgtca gactcccctg ggaatggctt ctggacacat tagagatttt 3480
cagattacag cttcaggaca atatggacag tgggccccaa agctggccag acttcattat 3540
tccggatcaa tcaatgcctg gagcaccaag gagccctttt cttggatcaa ggtggatctg 3600
ttggcaccaa tgattattca cggcatcaag acccagggtg cccgtcagaa gttctccagc 3660
ctctacatct ctcagtttat catcatgtat agtcttgatg ggaagaagtg gcagacttat 3720
cgaggaaatt ccactggaac cttaatggtc ttctttggca atgtggattc atctgggata 3780
aaacacaata tttttaaccc tccaattatt gctcgataca tccgtttgca cccaactcat 3840
tatagcattc gcagcactct tcgcatggag ttgatgggct gtgatttaaa tagttgcagc 3900
atgccattgg gaatggagag taaagcaata tcagatgcac agattactgc ttcatcctac 3960
tttaccaata tgtttgccac ctggtctcct tcaaaagctc gacttcacct ccaagggagg 4020
agtaatgcct ggagacctca ggtgaataat ccaaaagagt ggctgcaagt ggacttccag 4080
aagacaatga aagtcacagg agtaactact cagggagtaa aatctctgct taccagcatg 4140

tatgtgaagg agttcctcat ctccagcagt caagatggcc atcagtggac tctctttttt 4200
cagaatggca aagtaaaggt ttttcaggga aatcaagact ccttcacacc tgtggtgaac 4260
tctctagacc caccgttact gactcgctac cttcgaattc acccccagag ttgggtgcac 4320
cagattgccc tgaggatgga ggttctgggc tgcgaggcac aggacctcta ctga 4374

<210> 10
<211> 4374
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 10

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60
accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120
ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180
acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240
gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300
gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctgtt 360
ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420
gagaaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480
aaagagaatg gtccaatggc ctctgaccca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540
gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcattggag ccctactagt atgtagagaa 600
gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660
tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720
gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780
ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840
accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaaccat 900
cgccaggcgt ccttggaaat ctcgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960
gaccttggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacatga tggcatggaa 1020
gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaaccccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080
gaagcggaag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140
gatgacaact ctccttcctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200
tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260
cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320
aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct 1380
attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440
ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctaccctca cggaatcact 1500
gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaaggtg taaaacattt gaaggatttt 1560

ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620
actaaatcag atcctcggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga 1680
gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa 1740
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800
aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgctttc tccccaatcc agctggagtg 1860
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatgtt 1920
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980
attggagcac agactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa 2040
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg 2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc 2160
atgaccgcct tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac 2220
agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc 2280
ttctcccaaa acccaccagt cttgaaagcc catcaagcgg aaataactcg tactactctt 2340
cagtcagatc aagaggaaat tgactatgat gataccatat cagttgaaat gaagaaggaa 2400
gattttgaca tttatgatga ggatgaaaat cagagccccc gcagctttca aaagaaaaca 2460
cgacactatt ttattgctgc agtggagagg ctctgggatt atgggatgag tagctcccca 2520
catgttctaa gaaacagggc tcagagtggc agtgtccctc agttcaagaa agttgttttc 2580
caggaattta ctgatggctc ctttactcag cccttatacc gtggagaact aaatgaacat 2640
ttgggactcc tggggccata tataagagca gaagttgaag ataatatcat ggtaactttc 2700
agaaatcagg cctctcgtcc ctattccttc tattctagcc ttatttctta tgaggaagat 2760
cagaggcaag gagcagaacc tagaaaaaac tttgtcaagc ctaatgaaac caaaacttac 2820
ttttggaaag tgcaacatca tatggcaccc actaaagatg agtttgactg caaagcctgg 2880
gcttatttct ctgatgttga cctggaaaaa gatgtgcact caggcctgat tggacccctt 2940
ctggtctgcc acactaacac actgaaccct gctcatggga gacaagtgac agtacaggaa 3000
tttgctctgt ttttcaccat ctttgatgag accaaaagct ggtacttcac tgaaaatatg 3060
gaaagaaact gcagggctcc ctgcaatatc cagatggaag atcccacttt taaagagaat 3120
tatcgcttcc atgcaatcaa tggctacata atggatacac tacctggctt agtaatggct 3180
caggatcaaa ggattcgatg gtatctgctc agcatgggca gcaatgaaaa catccattct 3240
attcatttca gtggacatgt gttcactgta cgaaaaaaag aggagtataa aatggcactg 3300
tacaatctct atccaggtgt ttttgagaca gtggaaatgt taccatccaa agctggaatt 3360
tggcgggtgg aatgccttat tggcgagcat ctacatgctg ggatgagcac acttttctg 3420
gtgtacagca ataagtgtca gactcccctg ggaatggctt ctggacacat tagagatttt 3480
cagattacag cttcaggaca atatggacag tgggccccaa agctggccag acttcattat 3540
tccggatcaa tcaatgcctg gagcaccaag gagccctttt cttggatcaa ggtggatctg 3600
ttggcaccaa tgattattca cggcatcaag acccagggtg cccgtcagaa gttctccagc 3660
ctctacatct ctcagtttat catcatgtat agtcttgatg ggaagaagtg gcagacttat 3720
cgaggaaatt ccactggaac cttaatggtc ttctttggca atgtggattc atctgggata 3780
aaacacaata tttttaaccc tccaattatt gctcgataca tccgtttgca cccaactcat 3840
tatagcattc gcagcactct tcgcatggag ttgatgggct gtgatttaaa tagttgcagc 3900

atgccattgg gaatggagag taaagcaata tcagatgcac agattactgc ttcatcctac 3960
tttaccaata tgtttgccac ctggtctcct tcaaaagctc gacttcacct ccaagggagg 4020
agtaatgcct ggagacctca ggtgaataat ccaaaagagt ggctgcaagt ggacttccag 4080
aagacaatga aagtcacagg agtaactact cagggagtaa aatctctgct taccagcatg 4140
tatgtgaagg agttcctcat ctccagcagt caagatggcc atcagtggac tctcttttt 4200
cagaatggca aagtaaaggt ttttcaggga aatcaagact ccttcacacc tgtggtgaac 4260
tctctagacc caccgttact gactcgctac cttcgaattc acccccagag ttgggtgcac 4320
cagattgccc tgaggatgga ggttctgggc tgcgaggcac aggacctcta ctga 4374

<210> 11
<211> 4362
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 11

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60
accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120
ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180
acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240
gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300
gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctgtt 360
ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420
gagaaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480
aaagagaatg gtccaatggc ctctgaccca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540
gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcattggag ccctactagt atgtagagaa 600
gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660
tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720
gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780
ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840
accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaaccat 900
cgccaggcgt ccttggaaat ctcgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960
gaccttggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacatga tggcatggaa 1020
gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaaccccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080
gaagcggaag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140
gatgacaact ctccttcctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200
tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260
cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320

aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct 1380
attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440
ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctaccctca cggaatcact 1500
gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaaggtg taaaacattt gaaggatttt 1560
ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620
actaaatcag atcctcggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga 1680
gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa 1740
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800
aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgctttc tccccaatcc agctggagtg 1860
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatgtt 1920
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980
attggagcac agactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa 2040
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg 2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc 2160
atgaccgcct tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac 2220
agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc 2280
ttctcccaaa acccaccagt cttgaaagaa ataactcgta ctactcttca gtcagatcaa 2340
gaggaaattg actatgatga taccatatca gttgaaatga agaaggaaga ttttgacatt 2400
tatgatgagg atgaaaatca gagcccccgc agctttcaaa agaaaacacg acactatttt 2460
attgctgcag tggagaggct ctgggattat gggatgagta gctccccaca tgttctaaga 2520
aacagggctc agagtggcag tgtccctcag ttcaagaaag ttgttttcca ggaatttact 2580
gatggctcct ttactcagcc cttataccgt ggagaactaa atgaacattt gggactcctg 2640
gggccatata taagagcaga agttgaagat aatatcatgg taactttcag aaatcaggcc 2700
tctcgtccct attccttcta ttctagcctt atttcttatg aggaagatca gaggcaagga 2760
gcagaaccta gaaaaaactt tgtcaagcct aatgaaacca aaacttactt ttggaaagtg 2820
caacatcata tggcacccac taaagatgag tttgactgca aagcctgggc ttatttctct 2880
gatgttgacc tggaaaaaga tgtgcactca ggcctgattg gacccttct ggtctgccac 2940
actaacacac tgaaccctgc tcatgggaga caagtgacag tacaggaatt tgctctgttt 3000
ttcaccatct ttgatgagac caaaagctgg tacttcactg aaaatatgga aagaaactgc 3060
agggctccct gcaatatcca gatggaagat cccactttta aagagaatta tcgcttccat 3120
gcaatcaatg gctacataat ggatacacta cctggcttag taatggctca ggatcaaagg 3180
attcgatggt atctgctcag catgggcagc aatgaaaaca tccattctat tcatttcagt 3240
ggacatgtgt tcactgtacg aaaaaaagag gagtataaaa tggcactgta caatctctat 3300
ccaggtgttt ttgagacagt ggaaatgtta ccatccaaag ctggaatttg gcgggtggaa 3360
tgccttattg gcgagcatct acatgctggg atgagcacac tttttctggt gtacagcaat 3420
aagtgtcaga ctcccctggg aatggcttct ggacacatta gagattttca gattacagct 3480
tcaggacaat atggacagtg ggccccaaag ctggccagac ttcattattc cggatcaatc 3540
aatgcctgga gcaccaagga gccctttct tggatcaagg tggatctgtt ggcaccaatg 3600
attattcacg gcatcaagac ccagggtgcc cgtcagaagt tctccagcct ctacatctct 3660

cagtttatca tcatgtatag tcttgatggg aagaagtggc agacttatcg aggaaattcc 3720
actggaacct taatggtctt ctttggcaat gtggattcat ctgggataaa acacaatatt 3780
tttaaccctc caattattgc tcgatacatc cgtttgcacc caactcatta tagcattcgc 3840
agcactcttc gcatggagtt gatgggctgt gatttaaata gttgcagcat gccattggga 3900
atggagagta aagcaatatc agatgcacag attactgctt catcctactt taccaatatg 3960
tttgccacct ggtctccttc aaaagctcga cttcacctcc aagggaggag taatgcctgg 4020
agacctcagg tgaataatcc aaaagagtgg ctgcaagtgg acttccagaa gacaatgaaa 4080
gtcacaggag taactactca gggagtaaaa tctctgctta ccagcatgta tgtgaaggag 4140
ttcctcatct ccagcagtca agatggccat cagtggactc tctttttca gaatggcaaa 4200
gtaaaggttt ttcagggaaa tcaagactcc ttcacacctg tggtgaactc tctagaccca 4260
ccgttactga ctcgctacct tcgaattcac ccccagagtt gggtgcacca gattgccctg 4320
aggatggagg ttctgggctg cgaggcacag gacctctact ga 4362

<210> 12
<211> 4365
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 12

atgcaaatag agctctccac ctgcttcttt ctgtgccttt tgcgattctg ctttagtgcc 60
accagaagat actacctggg tgcagtggaa ctgtcatggg actatatgca aagtgatctc 120
ggtgagctgc ctgtggacgc aagatttcct cctagagtgc caaaatcttt tccattcaac 180
acctcagtcg tgtacaaaaa gactctgttt gtagaattca cggatcacct tttcaacatc 240
gctaagccaa ggccaccctg gatgggtctg ctaggtccta ccatccaggc tgaggtttat 300
gatacagtgg tcattacact taagaacatg gcttcccatc ctgtcagtct tcatgctgtt 360
ggtgtatcct actggaaagc ttctgaggga gctgaatatg atgatcagac cagtcaaagg 420
gagaaagaag atgataaagt cttccctggt ggaagccata catatgtctg gcaggtcctg 480
aaagagaatg gtccaatggc ctctgaccca ctgtgcctta cctactcata tctttctcat 540
gtggacctgg taaaagactt gaattcaggc ctcattggag ccctactagt atgtagagaa 600
gggagtctgg ccaaggaaaa gacacagacc ttgcacaaat ttatactact ttttgctgta 660
tttgatgaag ggaaaagttg gcactcagaa acaaagaact ccttgatgca ggatagggat 720
gctgcatctg ctcgggcctg gcctaaaatg cacacagtca atggttatgt aaacaggtct 780
ctgccaggtc tgattggatg ccacaggaaa tcagtctatt ggcatgtgat tggaatgggc 840
accactcctg aagtgcactc aatattcctc gaaggtcaca catttcttgt gaggaaccat 900
cgccaggcgt ccttggaaat ctcgccaata actttcctta ctgctcaaac actcttgatg 960
gaccttggac agtttctact gttttgtcat atctcttccc accaacatga tggcatggaa 1020
gcttatgtca aagtagacag ctgtccagag gaaccccaac tacgaatgaa aaataatgaa 1080

gaagcggaag actatgatga tgatcttact gattctgaaa tggatgtggt caggtttgat 1140
gatgacaact ctccttcctt tatccaaatt cgctcagttg ccaagaagca tcctaaaact 1200
tgggtacatt acattgctgc tgaagaggag gactgggact atgctccctt agtcctcgcc 1260
cccgatgaca gaagttataa aagtcaatat ttgaacaatg gccctcagcg gattggtagg 1320
aagtacaaaa aagtccgatt tatggcatac acagatgaaa cctttaagac tcgtgaagct 1380
attcagcatg aatcaggaat cttgggacct ttactttatg gggaagttgg agacacactg 1440
ttgattatat ttaagaatca agcaagcaga ccatataaca tctaccctca cggaatcact 1500
gatgtccgtc ctttgtattc aaggagatta ccaaaaggtg taaaacattt gaaggatttt 1560
ccaattctgc caggagaaat attcaaatat aaatggacag tgactgtaga agatgggcca 1620
actaaatcag atcctcggtg cctgacccgc tattactcta gtttcgttaa tatggagaga 1680
gatctagctt caggactcat tggccctctc ctcatctgct acaaagaatc tgtagatcaa 1740
agaggaaacc agataatgtc agacaagagg aatgtcatcc tgttttctgt atttgatgag 1800
aaccgaagct ggtacctcac agagaatata caacgctttc tccccaatcc agctggagtg 1860
cagcttgagg atccagagtt ccaagcctcc aacatcatgc acagcatcaa tggctatgtt 1920
tttgatagtt tgcagttgtc agtttgtttg catgaggtgg catactggta cattctaagc 1980
attggagcac agactgactt cctttctgtc ttcttctctg gatatacctt caaacacaaa 2040
atggtctatg aagacacact caccctattc ccattctcag gagaaactgt cttcatgtcg 2100
atggaaaacc caggtctatg gattctgggg tgccacaact cagactttcg gaacagaggc 2160
atgaccgcct tactgaaggt ttctagttgt gacaagaaca ctggtgatta ttacgaggac 2220
agttatgaag atatttcagc atacttgctg agtaaaaaca atgccattga accaagaagc 2280
ttctcccaaa acccaccagt cttgaaacgc gaaataactc gtactactct tcagtcagat 2340
caagaggaaa ttgactatga tgataccata tcagttgaaa tgaagaagga agattttgac 2400
atttatgatg aggatgaaaa tcagagcccc cgcagctttc aaaagaaaac acgacactat 2460
tttattgctg cagtggagag gctctgggat tatgggatga gtagctcccc acatgttcta 2520
agaaacaggg ctcagagtgg cagtgtccct cagttcaaga aagttgtttt ccaggaattt 2580
actgatggct cctttactca gcccttatac cgtggagaac taaatgaaca tttgggactc 2640
ctggggccat atataagagc agaagttgaa gataatatca tggtaacttt cagaaatcag 2700
gcctctcgtc cctattcctt ctattctagc cttatttctt atgaggaaga tcagaggcaa 2760
ggagcagaac ctagaaaaaa ctttgtcaag cctaatgaaa ccaaaactta cttttggaaa 2820
gtgcaacatc atatggcacc cactaaagat gagtttgact gcaaagcctg ggcttatttc 2880
tctgatgttg acctggaaaa agatgtgcac tcaggcctga ttggacccct tctggtctgc 2940
cacactaaca cactgaaccc tgctcatggg agacaagtga cagtacagga atttgctctg 3000
tttttcacca tctttgatga gaccaaaagc tggtacttca ctgaaaatat ggaaagaaac 3060
tgcagggctc cctgcaatat ccagatggaa gatcccactt ttaaagagaa ttatcgcttc 3120
catgcaatca atggctacat aatggataca ctacctggct tagtaatggc tcaggatcaa 3180
aggattcgat ggtatctgct cagcatgggc agcaatgaaa acatccattc tattcatttc 3240
agtggacatg tgttcactgt acgaaaaaaa gaggagtata aaatggcact gtacaatctc 3300
tatccaggtg tttttgagac agtggaaatg ttaccatcca aagctggaat ttggcgggtg 3360
gaatgcctta ttggcgagca tctacatgct gggatgagca cacttttct ggtgtacagc 3420

aataagtgtc agactcccct gggaatggct tctggacaca ttagagattt tcagattaca 3480
gcttcaggac aatatggaca gtgggcccca aagctggcca gacttcatta ttccggatca 3540
atcaatgcct ggagcaccaa ggagcccttt tcttggatca aggtggatct gttggcacca 3600
atgattattc acggcatcaa gacccagggt gcccgtcaga agttctccag cctctacatc 3660
tctcagttta tcatcatgta tagtcttgat gggaagaagt ggcagactta tcgaggaaat 3720
tccactggaa ccttaatggt cttctttggc aatgtggatt catctgggat aaaacacaat 3780
atttttaacc ctccaattat tgctcgatac atccgtttgc acccaactca ttatagcatt 3840
cgcagcactc ttcgcatgga gttgatgggc tgtgatttaa atagttgcag catgccattg 3900
ggaatggaga gtaaagcaat atcagatgca cagattactg cttcatccta ctttaccaat 3960
atgtttgcca cctggtctcc ttcaaaagct cgacttcacc tccaagggag gagtaatgcc 4020
tggagacctc aggtgaataa tccaaaagag tggctgcaag tggacttcca gaagacaatg 4080
aaagtcacag gagtaactac tcagggagta aaatctctgc ttaccagcat gtatgtgaag 4140
gagttcctca tctccagcag tcaagatggc catcagtgga ctctcttttt tcagaatggc 4200
aaagtaaagg tttttcaggg aaatcaagac tccttcacac ctgtggtgaa ctctctagac 4260
ccaccgttac tgactcgcta ccttcgaatt caccccccaga gttgggtgca ccagattgcc 4320
ctgaggatgg aggttctggg ctgcgaggca caggacctct actga 4365

<210> 13
<211> 4374
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 13
atgcagatcg agctgtctac ctgcttcttc ctgtgcctgc tgcggttctg cttcagcgcc 60
accagaagat attacctggg cgccgtggaa ctgagctggg actacatgca gtctgacctg 120
ggagagctgc ccgtggacgc tagatttcct ccaagagtgc ccaagagctt ccccttcaac 180
acctccgtgg tgtacaagaa aaccctgttc gtggaattca ccgaccacct gttcaatatc 240
gccaagcctc ggcctccttg gatgggactg ctgggaccta caattcaggc cgaggtgtac 300
gacaccgtgg tcatcaccct gaagaacatg gccagccatc ctgtgtctct gcacgccgtg 360
ggagtgtctt actggaaggc ttctgagggc gccgagtacg acgatcagac aagccagaga 420
gagaaagagg acgacaaggt tttccctggc ggcagccaca cctatgtctg gcaggtcctg 480
aaagaaaacg gccctatggc ctccgatcct ctgtgcctga catacagcta cctgagccac 540
gtggacctgg tcaaggacct gaattctggc ctgatcggag ccctgctcgt gtgtagagaa 600
ggcagcctgg ccaaagagaa aacccagaca ctgcacaagt tcatcctgct gttcgccgtg 660
ttcgacgagg gcaagagctg gcacagcgag acaaagaaca gcctgatgca ggacagggat 720
gccgcctctg ctagagcttg gcctaagatg cacaccgtga acggctacgt gaacagaagc 780
ctgcctggac tgatcggctg ccacagaaag tccgtgtact ggcacgtgat cggcatgggc 840

acaacacctg aggtgcacag catctttctg gaaggacaca ccttcctcgt gcggaaccat 900
agacaggcca gcctggaaat cagccctatc accttcctga ccgctcagac cctgctgatg 960
gatctgggcc agtttctgct gttctgccac atcagctccc accagcacga tggcatggaa 1020
gcctacgtga aggtggacag ctgccccgaa gaaccccagc tgcggatgaa gaacaacgag 1080
gaagccgagg actacgacga cgacctgacc gactctgaga tggacgtcgt cagattcgac 1140
gacgataaca gccccagctt catccagatc agaagcgtgg ccaagaagca ccccaagacc 1200
tgggtgcact atatcgccgc cgaggaagag gactgggatt acgctcctct ggtgctggcc 1260
cctgacgaca gaagctacaa gagccagtac ctgaacaacg gccctcagcg gatcggccgg 1320
aagtataaga aagtgcggtt catggcctac accgacgaga cattcaagac cagagaggcc 1380
atccagcacg agagcggaat tctgggccct ctgctgtatg gcgaagtggg cgatacactg 1440
ctgatcatct tcaagaacca ggccagcaga ccctacaaca tctaccctca cggcatcacc 1500
gatgtgcggc ccctgtattc tagaaggctg cccaagggcg tgaagcacct gaaggacttc 1560
cctatcctgc ctggcgagat cttcaagtac aagtggaccg tgaccgtgga agatggcccc 1620
accaagagcg accctagatg tctgacacgg tactacagca gcttcgtgaa catggaacgc 1680
gacctggcca gcggcctgat tggacctctg ctgatctgct acaaagaaag cgtggaccag 1740
cggggcaacc agatcatgag cgacaagcgg aacgtgatcc tgtttagcgt gttcgatgag 1800
aaccggtcct ggtatctgac cgagaacatc cagcggtttc tgcccaatcc tgctggcgtg 1860
cagctggaag atcctgagtt ccaggcctcc aacatcatgc actccatcaa tggctatgtg 1920
ttcgacagcc tgcagctgag cgtgtgcctg cacgaagtgg cctactggta catcctgagc 1980
attggcgccc agaccgactt cctgtccgtg ttctttagcg gctacacctt caagcacaag 2040
atggtgtacg aggataccct gacactgttc ccattcagcg gcgagacagt gttcatgagc 2100
atggaaaacc ccggcctgtg gatcctgggc tgtcacaaca gcgacttccg gaacagaggc 2160
atgacagccc tgctgaaggt gtccagctgc gacaagaaca ccggcgacta ctacgaggac 2220
agctatgagg acatcagcgc ctacctgctg agcaagaaca atgccatcga gcctcggagc 2280
ttcagccaga atcctcctgt gctgaagcgg caccagcgcg agatcaccag aacaaccctg 2340
cagagcgacc aagaggaaat cgattacgac gacaccatca gcgtcgagat gaagaaagaa 2400
gatttcgaca tctacgacga ggacgagaat cagagcccca gaagctttca gaaaaagacc 2460
cggcactact tcattgccgc cgtcgagaga ctgtgggact acggcatgtc tagcagccct 2520
cacgtgctga gaaatagagc ccagagcggc agcgtgcccc agttcaagaa agtggtgttc 2580
caagagttca ccgacggcag cttcacccag ccactgtata gaggcgagct gaacgagcat 2640
ctgggcctgc tgggccctta tatcagagcc gaagtggaag ataacatcat ggtcaccttc 2700
cggaatcagg cctctcggcc ctacagcttc tacagctccc tgatcagcta cgaagaggac 2760
cagagacagg gcgctgagcc cagaaagaac ttcgtgaagc ccaacgagac taagacctac 2820
ttttggaagg tgcagcacca catggcccct acaaaggacg agttcgactg caaggcctgg 2880
gcctactttt ccgatgtgga tctggaaaag gacgtgcaca gcgggctcat cggaccactg 2940
cttgtgtgcc acaccaacac actgaacccc gctcacggca gacaagtgac agtgcaagag 3000
ttcgccctgt tcttcaccat cttcgacgaa acaaagagct ggtacttcac cgagaatatg 3060
gaacggaact gcagagcccc ttgcaacatc cagatggaag atcccacctt caaagagaac 3120
taccggttcc acgccatcaa cggctacatc atggacacac tgcccggcct ggttatggct 3180

caggatcaga gaatccggtg gtatctgctg tccatgggct ccaacgagaa tatccacagc 3240
atccacttca gcggccacgt gttcaccgtg cggaaaaaag aagagtacaa aatggccctg 3300
tacaatctgt accctggggt gttcgaaacc gtggaaatgc tgccttccaa ggccggcatt 3360
tggagagtgg aatgtctgat tggagagcac ctccacgccg gaatgagcac cctgtttctg 3420
gtgtacagca acaagtgtca gacccctctc ggcatggcct ctggacacat cagagacttc 3480
cagatcaccg cctctggcca gtacggacag tgggctccta aactggctcg gctgcactac 3540
agcggcagca tcaatgcctg gtccaccaaa gagcccttca gctggatcaa ggtggacctg 3600
ctggctccca tgatcatcca cggaatcaag acccagggcg ccagacagaa gttcagcagc 3660
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggacg gcaagaagtg gcagacctac 3720
agaggcaaca gcaccggcac actcatggtg ttcttcggca acgtggactc cagcggcatt 3780
aagcacaaca tcttcaaccc tccaatcatt gcccggtaca tccggctgca ccccacacac 3840
tacagcatcc ggtctaccct gagaatggaa ctgatgggct gcgacctgaa cagctgcagc 3900
atgcccctcg gaatggaaag caaggccatc agcgacgccc agatcacagc cagcagctac 3960
ttcaccaaca tgttcgccac ttggagcccc tccaaggcta gactgcatct gcagggcaga 4020
agcaacgctt ggaggcccca agtgaacaac cccaaagagt ggctgcaggt cgactttcaa 4080
aagaccatga aagtgaccgg cgtgaccaca cagggcgtca agtctctgct gacctctatg 4140
tacgtgaaag agttcctgat ctccagcagc caggacggcc atcagtggac cctgtttttc 4200
cagaacggca aagtgaaagt gttccagggc aatcaggaca gcttcacacc cgtggtcaac 4260
tccctggatc ctccactgct gaccagatac ctgcggattc accctcagtc ttgggtgcac 4320
cagatcgctc tgcggatgga agtgctgggc tgtgaagctc aggacctcta ctga 4374

<210> 14
<211> 4374
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 14

atgcagatcg agctgagcac ctgcttcttc ctgtgcctgc tgcgcttctg cttcagcgcc 60
acccgccgct actacctggg cgccgtggag ctgagctggg actacatgca gagcgacctg 120
ggcgagctgc ccgtggacgc ccgcttcccc ccccgcgtgc ccaagagctt ccccttcaac 180
accagcgtgg tgtacaagaa gaccctgttc gtggagttca ccgaccacct gttcaacatc 240
gccaagcccc gccccccctg gatgggcctg ctgggcccca ccatccaggc cgaggtgtac 300
gacaccgtgg tgatcaccct gaagaacatg gccagccacc ccgtgagcct gcacgccgtg 360
ggcgtgagct actggaaggc cagcgagggc gccgagtacg acgaccagac cagccagcgc 420
gagaaggagg acgacaaggt gttccccggc ggcagccaca cctacgtgtg gcaggtgctg 480
aaggagaacg gccccatggc cagcgacccc ctgtgcctga cctacagcta cctgagccac 540
gtggacctgg tgaaggacct gaacagcggc ctgatcggcg ccctgctggt gtgccgcgag 600

ggcagcctgg ccaaggagaa gacccagacc ctgcacaagt tcatcctgct gttcgccgtg 660
ttcgacgagg gcaagagctg gcacagcgag accaagaaca gcctgatgca ggaccgcgac 720
gccgccagcg cccgcgcctg gcccaagatg cacaccgtga acggctacgt gaaccgcagc 780
ctgcccggcc tgatcggctg ccaccgcaag agcgtgtact ggcacgtgat cggcatgggc 840
accacccccg aggtgcacag catcttcctg gagggccaca ccttcctggt gcgcaaccac 900
cgccaggcca gcctggagat cagccccatc accttcctga ccgcccagac cctgctgatg 960
gacctgggcc agttcctgct gttctgccac atcagcagcc accagcacga cggcatggag 1020
gcctacgtga aggtggacag ctgccccgag gagccccagc tgcgcatgaa gaacaacgag 1080
gaggccgagg actacgacga cgacctgacc gacagcgaga tggacgtggt gcgcttcgac 1140
gacgacaaca gccccagctt catccagatc cgcagcgtgg ccaagaagca ccccaagacc 1200
tgggtgcact acatcgccgc cgaggaggag gactgggact acgccccct ggtgctggcc 1260
cccgacgacc gcagctacaa gagccagtac ctgaacaacg gcccccagcg catcggccgc 1320
aagtacaaga aggtgcgctt catggcctac accgacgaga ccttcaagac ccgcgaggcc 1380
atccagcacg agagcggcat cctgggcccc ctgctgtacg gcgaggtggg cgacaccctg 1440
ctgatcatct tcaagaacca ggccagccgc ccctacaaca tctaccccca cggcatcacc 1500
gacgtgcgcc ccctgtacag ccgccgcctg cccaagggcg tgaagcacct gaaggacttc 1560
cccatcctgc ccggcgagat cttcaagtac aagtggaccg tgaccgtgga ggacggcccc 1620
accaagagcg acccccgctg cctgacccgc tactacagca gcttcgtgaa catggagcgc 1680
gacctggcca gcggcctgat cggcccccctg ctgatctgct acaaggagag cgtggaccag 1740
cgcggcaacc agatcatgag cgacaagcgc aacgtgatcc tgttcagcgt gttcgacgag 1800
aaccgcagct ggtacctgac cgagaacatc cagcgcttcc tgcccaaccc cgccggcgtg 1860
cagctggagg accccgagtt ccaggccagc aacatcatgc acagcatcaa cggctacgtg 1920
ttcgacagcc tgcagctgag cgtgtgcctg cacgaggtgg cctactggta catcctgagc 1980
atcggcgccc agaccgactt cctgagcgtg ttcttcagcg gctacacctt caagcacaag 2040
atggtgtacg aggacaccct gaccctgttc cccttcagcg gcgagaccgt gttcatgagc 2100
atggagaacc ccggcctgtg gatcctgggc tgccacaaca gcgacttccg caaccgcggc 2160
atgaccgccc tgctgaaggt gagcagctgc gacaagaaca ccggcgacta ctacgaggac 2220
agctacgagg acatcagcgc ctacctgctg agcaagaaca acgccatcga gccccgcagc 2280
ttcagccaga acccccccgt gctgaagcgc caccagcgcg agatcacccg caccaccctg 2340
cagagcgacc aggaggagat cgactacgac gacaccatca gcgtggagat gaagaaggag 2400
gacttcgaca tctacgacga ggacgagaac cagagccccc gcagcttcca gaagaagacc 2460
cgccactact tcatcgccgc cgtggagcgc ctgtgggact acggcatgag cagcagcccc 2520
cacgtgctgc gcaaccgcgc ccagagcggc agcgtgcccc agttcaagaa ggtggtgttc 2580
caggagttca ccgacggcag cttcacccag cccctgtacc gcggcgagct gaacgagcac 2640
ctgggcctgc tgggccccta catccgcgcc gaggtggagg acaacatcat ggtgaccttc 2700
cgcaaccagg ccagccgccc ctacagcttc tacagcagcc tgatcagcta cgaggaggac 2760
cagcgccagg gcgccgagcc ccgcaagaac ttcgtgaagc ccaacgagac caagacctac 2820
ttctggaagg tgcagcacca catggccccc accaaggacg agttcgactg caaggcctgg 2880
gcctacttca gcgacgtgga cctggagaag gacgtgcaca gcggcctgat cggcccctg 2940

ctggtgtgcc acaccaacac cctgaacccc gcccacggcc gccaggtgac cgtgcaggag 3000
ttcgccctgt tcttcaccat cttcgacgag accaagagct ggtacttcac cgagaacatg 3060
gagcgcaact gccgcgcccc ctgcaacatc cagatggagg accccacctt caaggagaac 3120
taccgcttcc acgccatcaa cggctacatc atggacaccc tgcccggcct ggtgatggcc 3180
caggaccagc gcatccgctg gtacctgctg agcatgggca gcaacgagaa catccacagc 3240
atccacttca gcggccacgt gttcaccgtg cgcaagaagg aggagtacaa gatggccctg 3300
tacaacctgt accccggcgt gttcgagacc gtggagatgc tgcccagcaa ggccggcatc 3360
tggcgcgtgg agtgcctgat cggcgagcac ctgcacgccg gcatgagcac cctgttcctg 3420
gtgtacagca acaagtgcca gacccccctg ggcatggcca gcggccacat ccgcgacttc 3480
cagatcaccg ccagcggcca gtacggccag tgggccccca agctggcccg cctgcactac 3540
agcggcagca tcaacgcctg gagcaccaag gagcccttca gctggatcaa ggtggacctg 3600
ctggccccca tgatcatcca cggcatcaag acccagggcg cccgccagaa gttcagcagc 3660
ctgtacatca gccagttcat catcatgtac agcctggacg gcaagaagtg gcagacctac 3720
cgcggcaaca gcaccggcac cctgatggtg ttcttcggca acgtggacag cagcggcatc 3780
aagcacaaca tcttcaaccc ccccatcatc gcccgctaca tccgcctgca ccccacccac 3840
tacagcatcc gcagcaccct gcgcatggag ctgatgggct gcgacctgaa cagctgcagc 3900
atgcccctgg gcatggagag caaggccatc agcgacgccc agatcaccgc cagcagctac 3960
ttcaccaaca tgttcgccac ctggagcccc agcaaggccc gcctgcacct gcagggccgc 4020
agcaacgcct ggcgccccca ggtgaacaac cccaaggagt ggctgcaggt ggacttccag 4080
aagaccatga aggtgaccgg cgtgaccacc cagggcgtga agagcctgct gaccagcatg 4140
tacgtgaagg agttcctgat cagcagcagc caggacggcc accagtggac cctgttcttc 4200
cagaacggca aggtgaaggt gttccagggc aaccaggaca gcttcacccc cgtggtgaac 4260
agcctggacc ccccccctgct gacccgctac ctgcgcatcc acccccagag ctgggtgcac 4320
cagatcgccc tgcgcatgga ggtgctgggc tgcgaggccc aggacctgta ctga 4374

<210> 15
<211> 4374
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 15

atgcagattg agctgagcac ctgtttcttc ctgtgcctgc tgagattttg cttctcagct 60
acccgcaggt actacctggg agccgttgag ctgtcctggg attacatgca gtcagatctg 120
ggggagctgc ctgtggacgc tcggtttccc cccagagtgc caaagtcctt tcccttcaac 180
accagcgtgg tgtacaaaaa gacacttttt gttgaattta ctgaccactt gttcaacatc 240
gccaagccac gacccccatg gatgggcctg ctggggccaa ccattcaggc agaggtttac 300
gacacagtcg tgatcacact gaagaacatg gcctcccatc cagtgtctct gcacgccgtc 360

ggtgtgtcct actggaaagc atccgagggc gccgagtatg acgaccagac cagccagaga 420
gagaaagagg acgacaaagt gttccctgga ggcagccaca cctacgtgtg gcaggtgttg 480
aaggaaaatg ggcccatggc cagtgaccct ttgtgtctga cttactcata cctgtctcat 540
gtggatctag tcaaggacct gaattctgga ctgattgggg cactgcttgt gtgccgcgaa 600
ggcagcctgg ccaaagaaaa gacacagacc cttcacaagt tcatcctgct gttcgccgtg 660
ttcgacgaag gcaaatcctg gcactcagaa accaaaaact cactgatgca ggaccgggat 720
gccgcctctg cccgcgcatg gccaaaaatg cacaccgtca acggctatgt caatagaagt 780
ttgcccggcc tcattggatg tcacaggaaa agcgtctatt ggcatgtaat cgggatggga 840
accacacctg aggtccacag catatttctg gaaggccaca catttctggt gagaaatcat 900
cgccaggctt ccctggaaat ttcccccatc accttcttga ccgcccagac actgctcatg 960
gatcttgggc agtttctgct gttttgtcat atttcttctc accaacacga cggaatggag 1020
gcctacgtta aggtcgatag ttgccctgaa gaacctcagc tgaggatgaa gaacaacgag 1080
gaagccgagg actacgatga cgatttgacc gattccgaaa tggacgtggt gcgctttgat 1140
gatgacaatt ctccatcctt cattcagatt agatccgtcg ccaagaagca ccccaagacc 1200
tgggtgcact acattgcagc cgaggaggag gattgggact acgccccccc ggtgctggca 1260
cccgacgacc gaagctacaa atctcagtac ctgaacaatg gtccacaacg gatcggcagg 1320
aagtacaaga aagtgcggtt catggcctat acagacgaaa ccttcaaaac cagggaggct 1380
atccagcacg agtctgggat tctgggacca ctcctgtacg gcgaagtggg cgacaccttg 1440
ttaattatct tcaagaacca ggctagtaga ccttataaca tttatcccca cggcattacc 1500
gatgtgcggc ctctctactc taggcggctt ccaaaggggg tgaaacacct gaaggacttt 1560
cccatcctcc ctggcgaaat ctttaagtat aagtggacag tgaccgtgga ggatggacca 1620
accaagagcg accccaggtg cctgacacgc tattattcaa gcttcgtgaa tatggaaagg 1680
gacctcgcat ctggcttgat cggccctctg ctgatatgtt acaaggaaag cgtcgatcag 1740
agaggaaatc agatcatgtc agacaaaagg aatgtgatcc tgttctccgt cttcgatgaa 1800
aacaggagct ggtatctgac agagaacatc cagagattcc tgccaaatcc cgccggcgtc 1860
cagctggagg acccggagtt tcaggcatct aacatcatgc attccattaa tggttacgtg 1920
ttcgactccc tgcagctgag cgtgtgcctc cacgaggtgg cctactggta catcttgagc 1980
atcggcgccc agaccgactt tctgagcgtc tttttctccg ggtatacttt caaacataag 2040
atggtgtacg aagatactct gacgctgttc cctttctctg gggagactgt gtttatgtct 2100
atggagaacc ctggactgtg gattctcgga tgccacaaca gtgactttcg taatagaggg 2160
atgactgcac tgctgaaggt gtccagctgt gataaaaata ctggcgacta ctacgaagat 2220
agctatgagg atatctcagc atacctgctg agcaagaata acgccatcga gccccgaagc 2280
ttctcacaga atccccctgt cctcaagagg caccagcgag agatcacaag gaccacactc 2340
cagtccgacc aggaggagat tgactacgat gacacgattt ctgtggagat gaaaaaagag 2400
gactttgaca tctacgatga ggatgaaaac cagagcccta ggtcgttcca gaagaaaaca 2460
aggcactact tcattgccgc cgtggagaga ctgtgggact acggaatgag tagttcccca 2520
cacgtgttgc ggaacagagc ccagagtggg tccgtcccac agttcaagaa ggttgttttc 2580
caggagttca cagatggctc cttcactcag ccactgtatc gcggcgagct gaatgagcac 2640
ttgggcttat tgggccccta cattcgcgca gaagtcgaag ataatattat ggtgaccttc 2700

cgcaaccagg ccagccggcc ttactcattc tactcctctc tcatctctta tgaggaggat 2760
cagcgccagg gcgccgaacc ccggaagaac tttgtgaagc ccaatgaaac caaaacttac 2820
ttttggaagg tgcagcacca tatggcgccg acgaaagacg aatttgactg caaagcctgg 2880
gcctacttca gcgacgtcga cttggagaag gacgtccaca gcggcctgat tggccctttg 2940
ttggtctgcc ataccaatac actcaaccct gcccacggga ggcaggtgac cgtgcaggag 3000
tttgccttgt tcttcaccat cttcgacgaa accaagagct ggtacttcac agagaacatg 3060
gagaggaact gcagagcacc ctgtaacatc cagatggagg accctacttt caaggaaaat 3120
tacaggttcc atgccattaa tggctacatc atggataccc tccccgggct tgtgatggct 3180
caggaccagc gcatccgctg gtacctgctc tcaatgggct ccaacgagaa cattcatagc 3240
atccacttta gtggccacgt gtttaccgtg cgcaagaagg aggagtacaa gatggcactg 3300
tacaacctgt accctggcgt gtttgagaca gtggagatgc tgccatccaa ggccggcatc 3360
tggcgcgtgg agtgcctcat tggggagcac ctccatgctg gcatgtctac actgttcctg 3420
gtgtacagca acaagtgtca gactccactc ggaatggcct ccgggcatat ccgcgatttt 3480
cagatcacgg cctctggcca gtatggccaa tgggctccca agctggccag gctgcactac 3540
agtgggagta tcaacgcttg gagcaccaag gagcctttct cctggatcaa ggtggacctg 3600
cttgccccca tgattattca cggcattaag acacaggggg ccaggcagaa attctcctcc 3660
ctgtacatct cccagttcat catcatgtac agtctggacg gcaaaaagtg gcagacctac 3720
cgcgggaaca gtaccgggac attgatggtg ttcttcggga acgtggactc tagcggcatt 3780
aaacacaaca ttttcaaccc ccccatcatt gctaggtata tcaggctcca tcccacccac 3840
tatagcatca ggtccactct gcggatggag ctgatgggct gcgaccttaa ttcatgcagc 3900
atgccgctgg gcatggagtc aaaggccatc tccgacgccc aaatcaccgc ctccagctac 3960
ttcaccaata tgttcgccac ctggagcccc agcaaggccc ggctgcacct gcagggccgc 4020
agcaacgcct ggcggcctca ggtgaacaac cccaaggagt ggctgcaggt ggacttccag 4080
aaaaccatga aggtgactgg ggtcaccacc cagggagtca agagcctgct gaccagcatg 4140
tatgtgaagg agttcttgat cagctcgtca caggatggcc accagtggac tttgttcttt 4200
cagaacggta aggtgaaagt gttccaggga aaccaagatt cctttacacc agtggtcaac 4260
tctctggatc ctcccctgct gacacggtac ctgcggatcc atccccagtc atgggtgcac 4320
cagattgctc tgcgcatgga ggtgcttggc tgcgaggccc aggacctgta ctga 4374

<210> 16
<211> 4374
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 16
atgcagattg agctgagcac ctgtttcttc ctgtgcctgc tgagattttg cttctcagct 60
acccgcaggt actacctggg agccgttgag ctgtcctggg attacatgca gtcagatctg 120

ggggagctgc ctgtggacgc tcggtttccc cccagagtgc caaagtcctt tcccttcaac 180
accagcgtgg tgtacaaaaa gacacttttt gttgaattta ctgaccactt gttcaacatc 240
gccaagccac gacccccatg gatgggcctg ctggggccaa ccattcaggc agaggtttac 300
gacacagtcg tgatcacact gaagaacatg gcctcccatc cagtgtctct gcacgccgtc 360
ggtgtgtcct actggaaagc atccgagggc gccgagtatg acgaccagac cagccagaga 420
gagaaagagg acgacaaagt gttccctgga ggcagccaca cctacgtgtg gcaggtgttg 480
aaggaaaatg ggcccatggc cagtgaccct ttgtgtctga cttactcata cctgtctcat 540
gtggatctag tcaaggacct gaattctgga ctgattgggg cactgcttgt gtgccgcgaa 600
ggcagcctgg ccaaagaaaa gacacagacc cttcacaagt tcatcctgct gttcgccgtg 660
ttcgacgaag gcaaatcctg gcactcagaa accaaaaact cactgatgca ggaccgggat 720
gccgcctctg cccgcgcatg gccaaaaatg cacaccgtca acggctatgt caatagaagt 780
ttgcccggcc tcattggatg tcacaggaaa agcgtctatt ggcatgtaat cgggatggga 840
accacacctg aggtccacag catatttctg gaaggccaca catttctggt gagaaatcat 900
cgccaggctt ccctggaaat ttcccccatc accttcttga ccgcccagac actgctcatg 960
gatcttgggc agtttctgct gttttgtcat atttcttctc accaacacga cggaatggag 1020
gcctacgtta aggtcgatag ttgccctgaa gaacctcagc tgaggatgaa gaacaacgag 1080
gaagccgagg actacgatga cgatttgacc gattccgaaa tggacgtggt gcgctttgat 1140
gatgacaatt ctccatcctt cattcagatt agatccgtcg ccaagaagca ccccaagacc 1200
tgggtgcact acattgcagc cgaggaggag gattgggact acgccccccct ggtgctggca 1260
cccgacgacc gaagctacaa atctcagtac ctgaacaatg gtccacaacg gatcggcagg 1320
aagtacaaga aagtgcggtt catggcctat acagacgaaa ccttcaaaac cagggaggct 1380
atccagcacg agtctgggat tctgggacca ctcctgtacg gcgaagtggg cgacaccttg 1440
ttaattatct tcaagaacca ggctagtaga ccttataaca tttatcccca cggcattacc 1500
gatgtgcggc ctctctactc taggcggctt ccaaaggggg tgaaacacct gaaggacttt 1560
cccatcctcc ctggcgaaat ctttaagtat aagtggacag tgaccgtgga ggatggacca 1620
accaagagcg accccaggtg cctgacacgc tattattcaa gcttcgtgaa tatggaaagg 1680
gacctcgcat ctggcttgat cggccctctg ctgatatgtt acaaggaaag cgtcgatcag 1740
agaggaaatc agatcatgtc agacaaaagg aatgtgatcc tgttctccgt cttcgatgaa 1800
aacaggagct ggtatctgac agagaacatc cagagattcc tgccaaatcc cgccggcgtc 1860
cagctggagg acccggagtt tcaggcatct aacatcatgc attccattaa tggttacgtg 1920
ttcgactccc tgcagctgag cgtgtgcctc cacgaggtgg cctactggta catcttgagc 1980
atcggcgccc agaccgactt tctgagcgtc tttttctccg ggtatacttt caaacataag 2040
atggtgtacg aagatactct gacgctgttc cctttctctg gggagactgt gtttatgtct 2100
atggagaacc ctggactgtg gattctcgga tgccacaaca gtgactttcg taatagaggg 2160
atgactgcac tgctgaaggt gtccagctgt gataaaaata ctggcgacta ctacgaagat 2220
agctatgagg atatctcagc atacctgctg agcaagaata acgccatcga gccccgaagc 2280
ttctcacaga atccccctgt cctcaaggcc caccaggcgg agatcacaag gaccacactc 2340
cagtccgacc aggaggagat tgactacgat gacacgattt ctgtggagat gaaaaaagag 2400
gactttgaca tctacgatga ggatgaaaac cagagcccta ggtcgttcca gaagaaaaca 2460

aggcactact tcattgccgc cgtggagaga ctgtgggact acggaatgag tagttcccca 2520
cacgtgttgc ggaacagagc ccagagtggg tccgtcccac agttcaagaa ggttgtttc 2580
caggagttca cagatggctc cttcactcag ccactgtatc gcggcgagct gaatgagcac 2640
ttgggcttat tgggccccta cattcgcgca gaagtcgaag ataatattat ggtgaccttc 2700
cgcaaccagg ccagccggcc ttactcattc tactcctctc tcatctctta tgaggaggat 2760
cagcgccagg gcgccgaacc ccggaagaac tttgtgaagc ccaatgaaac caaaacttac 2820
ttttggaagg tgcagcacca tatggcgccg acgaaagacg aatttgactg caaagcctgg 2880
gcctacttca gcgacgtcga cttggagaag gacgtccaca gcggcctgat tggccctttg 2940
ttggtctgcc ataccaatac actcaaccct gcccacggga ggcaggtgac cgtgcaggag 3000
tttgccttgt tcttcaccat cttcgacgaa accaagagct ggtacttcac agagaacatg 3060
gagaggaact gcagagcacc ctgtaacatc cagatggagg accctacttt caaggaaaat 3120
tacaggttcc atgccattaa tggctacatc atggataccc tccccgggct tgtgatggct 3180
caggaccagc gcatccgctg gtacctgctc tcaatgggct ccaacgagaa cattcatagc 3240
atccacttta gtggccacgt gtttaccgtg cgcaagaagg aggagtacaa gatggcactg 3300
tacaacctgt accctggcgt gtttgagaca gtggagatgc tgccatccaa ggccggcatc 3360
tggcgcgtgg agtgcctcat tggggagcac ctccatgctg gcatgtctac actgttcctg 3420
gtgtacagca acaagtgtca gactccactc ggaatggcct ccgggcatat ccgcgatttt 3480
cagatcacgg cctctggcca gtatggccaa tgggctccca agctggccag gctgcactac 3540
agtgggagta tcaacgcttg gagcaccaag gagcctttct cctggatcaa ggtggacctg 3600
cttgccccca tgattattca cggcattaag acacaggggg ccaggcagaa attctcctcc 3660
ctgtacatct cccagttcat catcatgtac agtctggacg gcaaaaagtg gcagacctac 3720
cgcgggaaca gtaccgggac attgatggtg ttcttcggga acgtggactc tagcggcatt 3780
aaacacaaca ttttcaaccc ccccatcatt gctaggtata tcaggctcca tcccacccac 3840
tatagcatca ggtccactct gcggatggag ctgatgggct gcgaccttaa ttcatgcagc 3900
atgccgctgg gcatggagtc aaaggccatc tccgacgccc aaatcaccgc ctccagctac 3960
ttcaccaata tgttcgccac ctggagcccc agcaaggccc ggctgcacct gcagggccgc 4020
agcaacgcct ggcggcctca ggtgaacaac cccaaggagt ggctgcaggt ggacttccag 4080
aaaaccatga aggtgactgg ggtcaccacc cagggagtca agagcctgct gaccagcatg 4140
tatgtgaagg agttcttgat cagctcgtca caggatggcc accagtggac tttgttcttt 4200
cagaacggta aggtgaaagt gttccaggga aaccaagatt cctttacacc agtggtcaac 4260
tctctggatc ctcccctgct gacacggtac ctgcggatcc atccccagtc atgggtgcac 4320
cagattgctc tgcgcatgga ggtgcttggc tgcgaggccc aggacctgta ctga 4374

<210> 17
<211> 4425
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成

多核苷酸"

〈400〉 17

atgcagattg agctgagcac ctgtttcttc ctgtgcctgc tgagattttg cttctcagct 60
acccgcaggt actacctggg agccgttgag ctgtcctggg attacatgca gtcagatctg 120
ggggagctgc ctgtggacgc tcggtttccc cccagagtgc caaagtcctt tcccttcaac 180
accagcgtgg tgtacaaaaa gacacttttt gttgaattta ctgaccactt gttcaacatc 240
gccaagccac gacccccatg gatgggcctg ctggggccaa ccattcaggc agaggtttac 300
gacacagtcg tgatcacact gaagaacatg gcctcccatc cagtgtctct gcacgccgtc 360
ggtgtgtcct actggaaagc atccgagggc gccgagtatg acgaccagac cagccagaga 420
gagaaagagg acgacaaagt gttccctgga ggcagccaca cctacgtgtg gcaggtgttg 480
aaggaaaatg ggcccatggc cagtgaccct ttgtgtctga cttactcata cctgtctcat 540
gtggatctag tcaaggacct gaattctgga ctgattgggg cactgcttgt gtgccgcgaa 600
ggcagcctgg ccaaagaaaa gacacagacc cttcacaagt tcatcctgct gttcgccgtg 660
ttcgacgaag gcaaatcctg gcactcagaa accaaaaact cactgatgca ggaccgggat 720
gccgcctctg cccgcgcatg gccaaaaatg cacaccgtca acggctatgt caatagaagt 780
ttgcccggcc tcattggatg tcacaggaaa agcgtctatt ggcatgtaat cgggatggga 840
accacacctg aggtccacag catatttctg gaaggccaca catttctggt gagaaatcat 900
cgccaggctt ccctggaaat ttcccccatc accttcttga ccgcccagac actgctcatg 960
gatcttgggc agtttctgct gttttgtcat atttcttctc accaacacga cggaatggag 1020
gcctacgtta aggtcgatag ttgccctgaa gaacctcagc tgaggatgaa gaacaacgag 1080
gaagccgagg actacgatga cgatttgacc gattccgaaa tggacgtggt gcgctttgat 1140
gatgacaatt ctccatcctt cattcagatt agatccgtcg ccaagaagca ccccaagacc 1200
tgggtgcact acattgcagc cgaggaggag gattgggact acgccccccct ggtgctggca 1260
cccgacgacc gaagctacaa atctcagtac ctgaacaatg gtccacaacg gatcggcagg 1320
aagtacaaga aagtgcggtt catggcctat acagacgaaa ccttcaaaac cagggaggct 1380
atccagcacg agtctgggat tctgggacca ctcctgtacg gcgaagtggg cgacaccttg 1440
ttaattatct tcaagaacca ggctagtaga ccttataaca tttatcccca cggcattacc 1500
gatgtgcggc ctctctactc taggcggctt ccaaaggggg tgaaacacct gaaggacttt 1560
cccatcctcc ctggcgaaat ctttaagtat aagtggacag tgaccgtgga ggatggacca 1620
accaagagcg accccaggtg cctgacacgc tattattcaa gcttcgtgaa tatggaaagg 1680
gacctcgcat ctggcttgat cggccctctg ctgatatgtt acaaggaaag cgtcgatcag 1740
agaggaaatc agatcatgtc agacaaaagg aatgtgatcc tgttctccgt cttcgatgaa 1800
aacaggagct ggtatctgac agagaacatc cagagattcc tgccaaatcc cgccggcgtc 1860
cagctggagg acccggagtt tcaggcatct aacatcatgc attccattaa tggttacgtg 1920
ttcgactccc tgcagctgag cgtgtgcctc cacgaggtgg cctactggta catcttgagc 1980
atcggcgccc agaccgactt tctgagcgtc tttttctccg ggtatacttt caaacataag 2040
atggtgtacg aagatactct gacgctgttc cctttctctg gggagactgt gtttatgtct 2100
atggagaacc ctggactgtg gattctcgga tgccacaaca gtgactttcg taatagaggg 2160
atgactgcac tgctgaaggt gtccagctgt gataaaaata ctggcgacta ctacgaagat 2220

agctatgagg atatctcagc atacctgctg agcaagaata acgccatcga gccccgaagc 2280
ttctcacaga atgccaccaa cgtgagcaac aacagcaaca ccagcaacga cagcaacgtg 2340
agccccccctg tcctcaaggc ccaccaggcg gagatcacaa ggaccacact ccagtccgac 2400
caggaggaga ttgactacga tgacacgatt tctgtggaga tgaaaaaaga ggactttgac 2460
atctacgatg aggatgaaaa ccagagccct aggtcgttcc agaagaaaac aaggcactac 2520
ttcattgccg ccgtggagag actgtgggac tacggaatga gtagttcccc acacgtgttg 2580
cggaacagag cccagagtgg gtccgtccca cagttcaaga aggttgtttt ccaggagttc 2640
acagatggct ccttcactca gccactgtat cgcggcgagc tgaatgagca cttgggctta 2700
ttgggcccct acattcgcgc agaagtcgaa gataatatta tggtgacctt ccgcaaccag 2760
gccagccggc cttactcatt ctactcctct ctcatctctt atgaggagga tcagcgccag 2820
ggcgccgaac cccggaagaa ctttgtgaag cccaatgaaa ccaaaactta cttttggaag 2880
gtgcagcacc atatggcgcc gacgaaagac gaatttgact gcaaagcctg ggcctacttc 2940
agcgacgtcg acttggagaa ggacgtccac agcggcctga ttggcccttt gttggtctgc 3000
cataccaata cactcaaccc tgcccacggg aggcaggtga ccgtgcagga gtttgccttg 3060
ttcttcacca tcttcgacga aaccaagagc tggtacttca cagagaacat ggagaggaac 3120
tgcagagcac cctgtaacat ccagatggag gaccctactt tcaaggaaaa ttacaggttc 3180
catgccatta atggctacat catggatacc ctccccgggc ttgtgatggc tcaggaccag 3240
cgcatccgct ggtacctgct ctcaatgggc tccaacgaga acattcatag catccacttt 3300
agtggccacg tgtttaccgt gcgcaagaag gaggagtaca agatggcact gtacaacctg 3360
taccctggcg tgtttgagac agtggagatg ctgccatcca aggccggcat ctggcgcgtg 3420
gagtgcctca ttggggagca cctccatgct ggcatgtcta cactgttcct ggtgtacagc 3480
aacaagtgtc agactccact cggaatggcc tccgggcata tccgcgattt tcagatcacg 3540
gcctctggcc agtatggcca atgggctccc aagctggcca ggctgcacta cagtgggagt 3600
atcaacgctt ggagcaccaa ggagcctttc tcctggatca aggtggacct gcttgccccc 3660
atgattattc acggcattaa gacacagggg gccaggcaga aattctcctc cctgtacatc 3720
tcccagttca tcatcatgta cagtctggac ggcaaaaagt ggcagaccta ccgcgggaac 3780
agtaccggga cattgatggt gttcttcggg aacgtggact ctagcggcat taaacacaac 3840
attttcaacc cccccatcat tgctaggtat atcaggctcc atcccaccca ctatagcatc 3900
aggtccactc tgcggatgga gctgatgggc tgcgacctta attcatgcag catgccgctg 3960
ggcatggagt caaaggccat ctccgacgcc caaatcaccg cctccagcta cttcaccaat 4020
atgttcgcca cctggagccc cagcaaggcc cggctgcacc tgcagggccg cagcaacgcc 4080
tggcggcctc aggtgaacaa ccccaaggag tggctgcagg tggacttcca gaaaaccatg 4140
aaggtgactg gggtcaccac ccagggagtc aagagcctgc tgaccagcat gtatgtgaag 4200
gagttcttga tcagctcgtc acaggatggc caccagtgga ctttgttctt tcagaacggt 4260
aaggtgaaag tgttccaggg aaaccaagat tcctttacac cagtggtcaa ctctctggat 4320
cctcccctgc tgacacggta cctgcggatc catccccagt catgggtgca ccagattgct 4380
ctgcgcatgg aggtgcttgg ctgcgaggcc caggacctgt actaa 4425

<210> 18

<211> 1386

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 18
atgcagcgcg tgaacatgat catggcagaa tcaccaggcc tcatcaccat ctgcctttta 60
ggatatctac tcagtgctga atgtacagtt tttcttgatc atgaaaacgc caacaaaatt 120
ctgaatcggc caaagaggta taattcaggt aaattggaag agtttgttca agggaacctt 180
gagagagaat gtatggaaga aaagtgtagt tttgaagaag cacgagaagt ttttgaaaac 240
actgaaagaa caactgaatt ttggaagcag tatgttgatg gagatcagtg tgagtccaat 300
ccatgtttaa atggcggcag ttgcaaggat gacattaatt cctatgaatg ttggtgtccc 360
tttggatttg aaggaaagaa ctgtgaatta gatgtaacat gtaacattaa gaatggcaga 420
tgcgagcagt tttgtaaaaa tagtgctgat aacaaggtgg tttgctcctg tactgaggga 480
tatcgacttg cagaaaacca gaagtcctgt gaaccagcag tgccatttcc atgtggaaga 540
gtttctgttt cacaaacttc taagctcacc cgtgctgaga ctgtttttcc tgatgtggac 600
tatgtaaatt ctactgaagc tgaaaccatt ttggataaca tcactcaaag cacccaatca 660
tttaatgact tcactcgggt tgttggtgga gaagatgcca aaccaggtca attcccttgg 720
caggttgttt tgaatggtaa agttgatgca ttctgtggag gctctatcgt taatgaaaaa 780
tggattgtaa ctgctgccca ctgtgttgaa actggtgtta aaattacagt tgtcgcaggt 840
gaacataata ttgaggagac agaacataca gagcaaaagc gaaatgtgat tcgaattatt 900
cctcaccaca actacaatgc agctattaat aagtacaacc atgacattgc ccttctggaa 960
ctggacgaac ccttagtgct aaacagctac gttacaccta tttgcattgc tgacaaggaa 1020
tacacgaaca tcttcctcaa atttggatct ggctatgtaa gtggctgggg aagagtcttc 1080
cacaaaggga gatcagcttt agttcttcag taccttagag ttccacttgt tgaccgagcc 1140
acatgtcttc tgtctacaaa gttcaccatc tataacaaca tgttctgtgc tggcttccat 1200
gaaggaggta gagattcatg tcaaggagat agtgggggac cccatgttac tgaagtggaa 1260
gggaccagtt tcttaactgg aattattagc tggggtgaag agtgtgcaat gaaaggcaaa 1320
tatggaatat ataccaaggt atcccggtat gtcaactgga ttaaggaaaa aacaaagctc 1380
acttaa 1386
<210> 19
<211> 1386
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"

<400> 19

atgcagcgcg tgaacatgat tatggccgag tctcccggcc tgatcaccat ctgtctgctg 60
ggctatctgc tgagcgccga gtgcaccgtg tttctggatc acgagaacgc caacaagatc 120
ctgaacagac ccaagcggta caacagcggc aagctggaag agttcgtgca gggcaacctg 180
gaacgcgagt gcatggaaga gaagtgcagc ttcgaagagg ccagagaggt gttcgagaac 240
accgagagaa ccaccgagtt ctggaagcag tacgtggacg gcgatcagtg cgagagcaac 300
ccttgtctga atggcggcag ctgcaaggac gacatcaaca gctacgagtg ctggtgcccc 360
ttcggcttcg agggcaagaa ttgcgagctg gacgtgacct gcaacatcaa gaacggcaga 420
tgcgagcagt tctgcaagaa cagcgccgac aacaaggtcg tgtgctcctg cacagagggc 480
tacagactgg ccgagaacca gaagtcttgc gagcccgctg tgcctttcc atgtggcaga 540
gtgtctgtgt cccagaccag caagctgacc agagccgaga cagtgttccc cgacgtggac 600
tacgtgaaca gcaccgaggc cgagacaatc ctggacaaca tcacccagag cacccagtcc 660
ttcaacgact tcaccagagt cgtcggcggc gaggatgcta agcctggaca gtttccttgg 720
caagtggtgc tgaacggcaa ggtggacgct ttttgtggcg gctccatcgt gaacgagaag 780
tggatcgtga ccgccgctca ctgtgtggaa accggcgtga agattacagt ggtggccggc 840
gagcacaaca tcgaggaaac agagcacacc gagcagaaac ggaacgtgat cagaatcatc 900
cctcaccaca actacaacgc cgccatcaac aagtacaacc acgatatcgc cctgctggaa 960
ctggacgagc ccctggtcct gaactcttac gtgaccccta tctgtatcgc cgacaaagag 1020
tacaccaaca tctttctgaa gttcggcagc ggctacgtgt ccggctgggg aagagttttc 1080
cacaagggca gatcagccct ggtgctgcag tacctgagag tgcccctggt ggatagagcc 1140
acatgcctgc tgagcaccaa gttcaccatc tacaacaaca tgttctgcgc cggcttccac 1200
gaaggcggca gagattcttg tcaaggcgat tctggcggcc ctcacgtgac agaggttgag 1260
ggcacaagct ttctgaccgg catcatcagc tggggcgaag agtgtgccat gaaggggaag 1320
tacggcatct acaccaaggt gtccagatac gtgaactgga tcaaagaaaa gaccaagctc 1380
acctga 1386

<210> 20
<211> 1386
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"

<400> 20

atgcagcgcg tgaacatgat catggccgag agccccggcc tgatcaccat ctgcctgctg 60
ggctacctgc tgagcgccga gtgcaccgtg ttcctggacc acgagaacgc caacaagatc 120
ctgaaccgcc ccaagcgcta caacagcggc aagctggagg agttcgtgca gggcaacctg 180
gagcgcgagt gcatggagga gaagtgcagc ttcgaggagg cccgcgaggt gttcgagaac 240
accgagcgca ccaccgagtt ctggaagcag tacgtggacg gcgaccagtg cgagagcaac 300

ccctgcctga acggcggcag ctgcaaggac gacatcaaca gctacgagtg ctggtgcccc 360
ttcggcttcg agggcaagaa ctgcgagctg gacgtgacct gcaacatcaa gaacggccgc 420
tgcgagcagt tctgcaagaa cagcgccgac aacaaggtgg tgtgcagctg caccgagggc 480
taccgcctgg ccgagaacca gaagagctgc gagcccgccg tgcccttccc ctgcggccgc 540
gtgagcgtga gccagaccag caagctgacc cgcgccgaga ctgtgttccc cgacgtggac 600
tacgtgaaca gcaccgaggc cgaaacgatc ctggacaaca tcacccagag cacccagagc 660
ttcaacgact tcacccgcgt ggtgggcggc gaggacgcca agcccggcca gttcccctgg 720
caggtggtgc tgaacggcaa ggtggacgcc ttctgcggcg gcagcatcgt gaacgagaag 780
tggatcgtga ccgccgccca ctgcgtggaa accggcgtga agatcaccgt ggtggccggc 840
gagcacaaca tcgaggaaac cgagcacacc gagcagaagc gcaacgtgat ccgcatcatc 900
ccccaccaca actacaacgc cgccatcaac aagtacaacc acgacatcgc cctgctggag 960
ctggacgagc ccctggtgct gaacagctac gtgaccccca tctgcatcgc cgacaaggag 1020
tacaccaaca tcttcctgaa gttcggcagc ggctacgtga gcggctgggg ccgcgtgttc 1080
cacaagggcc gcagcgccct ggtgctgcag tacctgcgcg tgcccctggt ggaccgcgcc 1140
acctgcctgc tgagcaccaa gttcaccatc tacaacaaca tgttctgcgc cggcttccac 1200
gagggcggcc gcgacagctg ccagggcgac agcggcggcc cccacgtgac cgaggtggag 1260
ggcaccagct tcctgaccgg catcatcagc tggggcgagg agtgcgccat gaagggcaag 1320
tacggcatct acaccaaggt gagccgctac gtgaactgga tcaaggagaa aaccaagctg 1380
acctaa 1386

<210> 21
<211> 1386
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 21

atgcagcggg tgaacatgat catggccgag agccccgggc tgatcaccat ctgtctgctg 60
gggtacctgc tgtccgccga gtgcaccgtg ttcctggacc acgagaacgc caacaagatc 120
ctgaatcgcc ccaagagata caattccgga aagctggaag agtttgtgca gggcaacctg 180
gagagagagt gcatggaaga gaagtgctcc ttcgaggagg cccgggaggt gttcgagaat 240
actgaacgga caacagagtt ctggaagcag tatgtggacg gcgaccagtg tgagagcaac 300
ccctgtctga acggcgggag ctgcaaggac gacattaatt cctacgaatg ctggtgccca 360
ttcggcttcg agggcaagaa ctgcgagctg gacgtgacct gcaacatcaa gaacggccgc 420
tgcgagcagt tttgcaagaa ctccgccgac aacaaggtgg tgtgttcttg caccgagggc 480
taccgcctgg ccgaaaacca gaagagctgt gagcctgccg tgcccttccc ctgcggccgg 540
gtgtctgtgt cccagacctc caagctgacc agagccgaaa ccgtgtttcc agatgtggac 600
tacgtgaata gcaccgaggc cgagactatc ctcgacaaca tcacccagtc cacccagagc 660

tttaacgact tcacccgcgt ggtgggcggc gaggacgcca agcccggcca gttcccctgg 720
caggtggtgc tcaacggaaa ggtggacgcc ttctgcggag gcagcatcgt gaatgaaaag 780
tggatcgtga cagccgccca ctgcgtggaa acaggggtga agatcaccgt ggtggctgga 840
gagcacaaca tcgaggagac agagcacacc gaacagaaga ggaatgtgat caggatcatc 900
ccccaccaca actataatgc cgccatcaac aagtacaacc acgacatcgc cctgctggag 960
ctggatgagc ccctggtgct caacagctac gtgaccccca tctgcatcgc tgacaaggag 1020
tacaccaaca tcttcctgaa gttcggctcc ggctacgtgt ctggctgggg ccgcgtgttc 1080
cacaagggaa gaagcgccct cgtgctgcag tacctgcggg tgccactggt ggacagggcc 1140
acctgcctgc tgagcactaa gttcaccatt tacaacaaca tgttctgcgc cggcttccac 1200
gagggcggca gggactcctg ccagggcgac agcggcggcc cccatgtgac cgaggtggag 1260
ggcacctcct ttctgactgg cattatctcc tggggcgagg agtgcgccat gaaggggaag 1320
tatggcatct acaccaaggt gtcccgctac gtgaactgga ttaaggagaa aaccaagctg 1380
acctga 1386

<210> 22
<211> 313
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 22
ttaaccctag aaagatagtc tgcgtaaaat tgacgcatgc attcttgaaa tattgctctc 60
tctttctaaa tagcgcgaat ccgtcgctgt gcatttagga catctcagtc gccgcttgga 120
gctcccgtga ggcgtgcttg tcaatgcggt aagtgtcact gattttgaac tataacgacc 180
gcgtgagtca aaatgacgca tgattatctt ttacgtgact tttaagattt aactcatacg 240
ataattatat tgttatttca tgttctactt acgtgataac ttattatata tatattttct 300
tgttatagat atc 313

<210> 23
<211> 1733
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 23
ctcgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacggggtca ttagttcata 60
gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc 120

ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag 180
ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac 240
atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg 300
cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg 360
tattagtcat cgctattacc atggtcgagg tgagccccac gttctgcttc actctcccca 420
tctccccccc ctccccaccc ccaattttgt atttatttat tttttaatta ttttgtgcag 480
cgatgggggc gggggggggg gggggcgcgc cgccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc 540
ggggcggggc gaggcggaga ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt 600
ttccttttat ggcgaggcgg cggcggcggc ggccctataa aaagcgaagc gcgcggcggg 660
cgggagtcgc tgcgcgctgc cttcgccccg tgccccgctc cgccgccgcc tcgcgccgcc 720
cgccccggct ctgactgacc gcgttactcc cacaggtgag cgggcgggac ggcccttctc 780
ctccgggctg taattagcgc ttggtttaat gacggcttgt ttcttttctg tggctgcgtg 840
aaagccttga ggggctccgg gagggccctt tgtgcggggg gagcggctcg gggggtgcgt 900
gcgtgtgtgt gtgcgtgggg agcgccgcgt gcggctccgc gctgcccggc ggctgtgagc 960
gctgcgggcg cggcgcgggg ctttgtgcgc tccgcagtgt gcgcgagggg agcgcggccg 1020
ggggcggtgc cccgcggtgc gggggggggct gcgaggggaa caaaggctgc gtgcggggtg 1080
tgtgcgtggg ggggtgagca gggggtgtgg gcgcgtcggt cgggctgcaa ccccccctgc 1140
acccccctcc ccgagttgct gagcacggcc cggcttcggg tgcggggctc cgtacggggc 1200
gtggcgcggg gctcgccgtg ccgggcgggg ggtggcggca ggtgggggtg ccgggcgggg 1260
cggggccgcc tcgggccggg gagggctcgg gggaggggcg cggcggcccc cggagcgccg 1320
gcggctgtcg aggcgcggcg agccgcagcc attgcctttt atggtaatcg tgcgagaggg 1380
cgcagggact tcctttgtcc caaatctgtg cggagccgaa atctgggagg cgccgccgca 1440
ccccctctag cgggcgcggg gcgaagcggt gcggcgccgg caggaaggaa atgggcgggg 1500
agggccttcg tgcgtcgccg cgccgccgtc cccttctccc tctccagcct cggggctgtc 1560
cgcgggggga cggctgcctt cgggggggac ggggcagggc ggggttcggc ttctggcgtg 1620
tgaccggcgg ctctagagcc tctgctaacc atgttcatgc cttcttcttt ttcctacagc 1680
tcctgggcaa cgtgctggtt attgtgctgt ctcatcattt tggcaaagaa ttg 1733

<210> 24
<211> 522
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 24
tcctcaggtg caggctgcct atcagaaggt ggtggctggt gtggccaatg ccctggctca 60
caaataccac tgagatcttt ttccctctgc caaaaattat ggggacatca tgaagcccct 120
tgagcatctg acttctggct aataaaggaa atttatttc attgcaatag tgtgttggaa 180

tttttttgtgt ctctcactcg gaaggacata tgggagggca aatcatttaa aacatcagaa 240
tgagtatttg gtttagagtt tggcaacata tgcccatatg ctggctgcca tgaacaaagg 300
ttggctataa agaggtcatc agtatatgaa acagcccccct gctgtccatt ccttattcca 360
tagaaaagcc ttgacttgag gttagatttt ttttatattt tgttttgtgt tatttttttc 420
tttaacatcc ctaaaatttt ccttacatgt tttactagcc agatttttcc tcctctcctg 480
actactccca gtcatagctg tccctcttct cttatggaga tc 522

<210> 25
<211> 235
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 25
ttaaccctag aaagataatc atattgtgac gtacgttaaa gataatcatg cgtaaaattg 60
acgcatgtgt tttatcggtc tgtatatcga ggtttattta ttaatttgaa tagatattaa 120
gttttattat atttacactt acatactaat aataaattca acaaacaatt tatttatgtt 180
tatttattta ttaaaaaaaa acaaaaactc aaaatttctt ctataaagta acaaa 235

<210> 26
<211> 6164
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 26
ttaaccctag aaagatagtc tgcgtaaaat tgacgcatgc attcttgaaa tattgctctc 60
tctttctaaa tagcgcgaat ccgtcgctgt gcatttagga catctcagtc gccgcttgga 120
gctcccgtga ggcgtgcttg tcaatgcggt aagtgtcact gattttgaac tataacgacc 180
gcgtgagtca aaatgacgca tgattatctt ttacgtgact tttaagattt aactcatacg 240
ataattatat tgttatttca tgttctactt acgtgataac ttattatata tatattttct 300
tgttatagat atcatcaact ttgtatagaa aagttgctcg acattgatta ttgactagtt 360
attaatagta atcaattacg gggtcattag ttcatagccc atatatggag ttccgcgtta 420
cataacttac ggtaaatggc ccgcctggct gaccgcccaa cgacccccgc ccattgacgt 480
caataatgac gtatgttccc atagtaacgc caatagggac tttccattga cgtcaatggg 540
tggagtattt acggtaaact gcccacttgg cagtacatca agtgtatcat atgccaagta 600
cgccccctat tgacgtcaat gacggtaaat ggcccgcctg gcattatgcc cagtacatga 660

ccttatggga ctttcctact tggcagtaca tctacgtatt agtcatcgct attaccatgg 720
tcgaggtgag ccccacgttc tgcttcactc tccccatctc ccccccctcc ccacccccaa 780
ttttgtattt atttatttt taattatttt gtgcagcgat gggggcgggg ggggggggg 840
ggcgcgcgcc aggcggggcg gggcggggcg aggggcgggg cggggcgagg cggagaggtg 900
cggcggcagc caatcagagc ggcgcgctcc gaaagtttcc ttttatggcg aggcggcggc 960
ggcggcggcc ctataaaaag cgaagcgcgc ggcgggcggg agtcgctgcg cgctgccttc 1020
gccccgtgcc ccgctccgcc gccgcctcgc gccgcccgcc ccggctctga ctgaccgcgt 1080
tactcccaca ggtgagcggg cgggacggcc cttctcctcc gggctgtaat tagcgcttgg 1140
tttaatgacg gcttgtttct tttctgtggc tgcgtgaaag ccttgagggg ctccgggagg 1200
gcccttgtg cgggggagc ggctcggggg gtgcgtgcgt gtgtgtgtgc gtggggagcg 1260
ccgcgtgcgg ctccgcgctg cccggcggct gtgagcgctg cgggcgcggc gcggggcttt 1320
gtgcgctccg cagtgtgcgc gaggggagcg cggccggggg cggtgccccg cggtgcgggg 1380
ggggctgcga ggggaacaaa ggctgcgtgc ggggtgtgtg cgtgggggg tgagcagggg 1440
gtgtgggcgc gtcggtcggg ctgcaacccc ccctgcaccc ccctccccga gttgctgagc 1500
acggcccggc ttcgggtgcg gggctccgta cggggcgtgg cgcggggctc gccgtgccgg 1560
gcgggggtg gcggcaggtg ggggtgccgg gcggggcggg gccgcctcgg gccggggagg 1620
gctcgggggа ggggcgcggc ggcccccgga gcgccggcgg ctgtcgaggc gcggcgagcc 1680
gcagccattg ccttttatgg taatcgtgcg agagggcgca gggacttcct ttgtcccaaa 1740
tctgtgcgga gccgaaatct gggaggcgcc gccgcacccc ctctagcggg cgcggggcga 1800
agcggtgcgg cgccggcagg aaggaaatgg gcggggaggg ccttcgtgcg tcgccgcgcc 1860
gccgtcccct tctccctctc cagcctcggg gctgtccgcg gggggacggc tgccttcggg 1920
ggggacgggg cagggcgggg ttcggcttct ggcgtgtgac cggcggctct agagcctctg 1980
ctaaccatgt tcatgccttc ttctttttcc tacagctcct gggcaacgtg ctggttattg 2040
tgctgtctca tcattttggc aaagaattgc aagtttgtac aaaaaagcag gctgccaccg 2100
aattcgcggc cgctaaaccc agctttcttg tacaaagtgg caactttatt atacatagtt 2160
gatcctcagg tgcaggctgc ctatcagaag gtggtggctg gtgtggccaa tgccctggct 2220
cacaaatacc actgagatct ttttccctct gccaaaaatt atggggacat catgaagccc 2280
cttgagcatc tgacttctgg ctaataaagg aaatttattt tcattgcaat agtgtgttgg 2340
aatttttgt gtctctcact cggaaggaca tatgggaggg caaatcattt aaaacatcag 2400
aatgagtatt tggtttagag tttggcaaca tatgcccata tgctggctgc catgaacaaa 2460
ggttggctat aaagaggtca tcagtatatg aaacagcccc ctgctgtcca ttccttattc 2520
catagaaaag ccttgacttg aggttagatt ttttttatat tttgttttgt gttatttttt 2580
tctttaacat ccctaaaatt ttccttacat gttttactag ccagattttt cctcctctcc 2640
tgactactcc cagtcatagc tgtccctctt ctcttatgga gatccctcga cctgcagccc 2700
aagcttggat ccctcgagtt aattaacgag agcataatat tgatatgtgc caaagttgtt 2760
tctgactgac taataagtat aatttgtttc tattatgtat aggttaagct aattacttat 2820
tttataatac aacatgactg tttttaaagt acaaaataag tttatttttg taaaagagag 2880
aatgtttaaa agttttgtta ctttatagaa gaaattttga gtttttgttt ttttttaata 2940
aataaataaa cataaataaa ttgtttgttg aatttattat tagtatgtaa gtgtaaatat 3000

aataaaactt aatatctatt caaattaata aataaacctc gatatacaga ccgataaaac 3060
acatgcgtca attttacgca tgattatctt taacgtacgt cacaatatga ttatctttct 3120
agggttaaat aatagtttct aatttttta ttattcagcc tgctgtcgtg aataccgagc 3180
tccaattcgc cctatagtga gtcgtattac aattcactgg ccgtcgtttt acaacgtcgt 3240
gactgggaaa accctggcgt tacccaactt aatcgccttg cagcacatcc ccctttcgcc 3300
agctggcgta atagcgaaga ggcccgcacc gatcgccctt cccaacagtt gcgcagcctg 3360
aatggcgaat gggacgcgcc ctgtagcggc gcattaagcg cggcgggtgt ggtggttacg 3420
cgcagcgtga ccgctacact tgccagcgcc ctagcgcccg ctcctttcgc tttcttccct 3480
tcctttctcg ccacgttcgc cggctttccc cgtcaagctc taaatcgggg gctcccttta 3540
gggttccgat ttagtgcttt acggcacctc gaccccaaaa aacttgatta gggtgatggt 3600
tcacgtagtg ggccatcgcc ctgatagacg gtttttcgcc ctttgacgtt ggagtccacg 3660
ttctttaata gtggactctt gttccaaact ggaacaacac tcaaccctat ctcggtctat 3720
tcttttgatt tataagggat tttgccgatt tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt 3780
taacaaaaat ttaacgcgaa ttttaacaaa atattaacgc ttacaattta ggtggcactt 3840
ttcggggaaa tgtgcgcgga acccctattt gtttatttt ctaaatacat tcaaatatgt 3900
atccgctcat gagacaataa ccctgataaa tgcttcaata atattgaaaa aggaagagta 3960
tgagtattca acatttccgt gtcgccctta ttccctttt tgcggcattt tgccttcctg 4020
tttttgctca cccagaaacg ctggtgaaag taaaagatgc tgaagatcag ttgggtgcac 4080
gagtgggtta catcgaactg gatctcaaca gcggtaagat ccttgagagt tttcgccccg 4140
aagaacgttt tccaatgatg agcacttta aagttctgct atgtggcgcg gtattatccc 4200
gtattgacgc cgggcaagag caactcggtc gccgcataca ctattctcag aatgacttgg 4260
ttgagtactc accagtcaca gaaaagcatc ttacggatgg catgacagta agagaattat 4320
gcagtgctgc cataaccatg agtgataaca ctgcggccaa cttacttctg acaacgatcg 4380
gaggaccgaa ggagctaacc gcttttttgc acaacatggg ggatcatgta actcgccttg 4440
atcgttggga accggagctg aatgaagcca taccaaacga cgagcgtgac accacgatgc 4500
ctgtagcaat ggcaacaacg ttgcgcaaac tattaactgg cgaactactt actctagctt 4560
cccggcaaca attaatagac tggatggagg cggataaagt tgcaggacca cttctgcgct 4620
cggcccttcc ggctggctgg tttattgctg ataaatctgg agccggtgag cgtgggtctc 4680
gcggtatcat tgcagcactg gggccagatg gtaagccctc ccgtatcgta gttatctaca 4740
cgacggggag tcaggcaact atggatgaac gaaatagaca gatcgctgag ataggtgcct 4800
cactgattaa gcattggtaa ctgtcagacc aagtttactc atatatactt tagattgatt 4860
taaaacttca tttttaattt aaaaggatct aggtgaagat ccttttgat aatctcatga 4920
ccaaaatccc ttaacgtgag ttttcgttcc actgagcgtc agaccccgta gaaaagatca 4980
aaggatcttc ttgagatcct ttttttctgc gcgtaatctg ctgcttgcaa acaaaaaaac 5040
caccgctacc agcggtggtt tgtttgccgg atcaagagct accaactctt tttccgaagg 5100
taactggctt cagcagagcg cagataccaa atactgttct tctagtgtag ccgtagttag 5160
gccaccactt caagaactct gtagcaccgc ctacatacct cgctctgcta atcctgttac 5220
cagtggctgc tgccagtggc gataagtcgt gtcttaccgg gttggactca agacgatagt 5280
taccggataa ggcgcagcgg tcgggctgaa cgggggttc gtgcacacag cccagcttgg 5340

agcgaacgac ctacaccgaa ctgagatacc tacagcgtga gctatgagaa agcgccacgc 5400
ttcccgaaga gagaaaggcg gacaggtatc cggtaagcgg cagggtcgga acaggagagc 5460
gcacgaggga gcttccaggg ggaaacgcct ggtatcttta tagtcctgtc gggtttcgcc 5520
acctctgact tgagcgtcga tttttgtgat gctcgtcagg ggggcggagc ctatggaaaa 5580
acgccagcaa cgcggccttt ttacggttcc tggccttttg ctggcctttt gctcacatgt 5640
tctttcctgc gttatcccct gattctgtgg ataaccgtat taccgccttt gagtgagctg 5700
ataccgctcg ccgcagccga acgaccgagc gcagcgagtc agtgagcgag gaagcggaag 5760
agcgcccaat acgcaaaccg cctctccccg cgcgttggcc gattcattaa tgcagctggc 5820
acgacaggtt tcccgactgg aaagcgggca gtgagcgcaa cgcaattaat gtgagttagc 5880
tcactcatta ggcaccccag gctttacact ttatgcttcc ggctcgtatg ttgtgtggaa 5940
ttgtgagcgg ataacaattt cacacaggaa acagctatga ccatgattac gccaagctcg 6000
aaattaaccc tcactaaagg gaacaaaagc tggtacctcg cgcgacttgg tttgccattc 6060
tttagcgcgc gtcgcgtcac acagcttggc cacaatgtgg tttttgtcaa acgaagattc 6120
tatgacgtgt ttaaagttta ggtcgagtaa agcgcaaatc tttt 6164

<210> 27
<211> 6721
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 27

ctcgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacggggtca ttagttcata 60
gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc 120
ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag 180
ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac 240
atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg 300
cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg 360
tattagtcat cgctattacc atggtcgagg tgagccccac gttctgcttc actctcccca 420
tctccccccc ctccccaccc ccaattttgt atttatttat tttttaatta ttttgtgcag 480
cgatgggggc gggggggggg ggggggcgcg cgccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc 540
ggggcggggc gaggcggaga ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt 600
ttccttttat ggcgaggcgg cggcggcggc ggccctataa aaagcgaagc gcgcggcggg 660
cgggagtcgc tgcgcgctgc cttcgccccg tgccccgctc cgccgccgcc tcgcgccgcc 720
cgccccggct ctgactgacc gcgttactcc cacaggtgag cgggcgggac ggcccttctc 780
ctccgggctg taattagcgc ttggtttaat gacggcttgt ttcttttctg tggctgcgtg 840
aaagccttga ggggctccgg gagggccctt tgtgcggggg gagcggctcg gggggtgcgt 900
gcgtgtgtgt gtgcgtgggg agcgccgcgt gcggctccgc gctgcccggc ggctgtgagc 960

gctgcgggcg cggcgcgggg ctttgtgcgc tccgcagtgt gcgcgagggg agcgcggccg 1020
ggggcggtgc cccgcggtgc gggggggggct gcgaggggaa caaaggctgc gtgcggggtg 1080
tgtgcgtggg ggggtgagca gggggtgtgg gcgcgtcggt cgggctgcaa ccccccctgc 1140
acccccctcc ccgagttgct gagcacggcc cggcttcggg tgcggggctc cgtacggggc 1200
gtggcgcggg gctcgccgtg ccgggcgggg ggtggcggca ggtgggggtg ccgggcgggg 1260
cggggccgcc tcgggccggg gagggctcgg gggaggggcg cggcggcccc cggagcgccg 1320
gcggctgtcg aggcgcggcg agccgcagcc attgcctttt atggtaatcg tgcgagaggg 1380
cgcagggact tcctttgtcc caaatctgtg cggagccgaa atctgggagg cgccgccgca 1440
ccccctctag cgggcgcggg gcgaagcggt gcggcgccgg caggaaggaa atgggcgggg 1500
agggccttcg tgcgtcgccg cgccgccgtc cccttctccc tctccagcct cggggctgtc 1560
cgcgggggga cggctgcctt cgggggggac ggggcagggc ggggttcggc ttctggcgtg 1620
tgaccggcgg ctctagagcc tctgctaacc atgttcatgc cttcttcttt ttcctacagc 1680
tcctgggcaa cgtgctggtt attgtgctgt ctcatcattt tggcaaagaa ttgcaagttt 1740
gtacaaaaaa gcaggctgcc accatgcaga ttgagctgag cacctgtttc ttcctgtgcc 1800
tgctgagatt ttgcttctca gctacccgca ggtactacct gggagccgtt gagctgtcct 1860
gggattacat gcagtcagat ctgggggagc tgcctgtgga cgctcggttt ccccccagag 1920
tgccaaagtc ctttcccttc aacaccagcg tggtgtacaa aaagacactt tttgttgaat 1980
ttactgacca cttgttcaac atcgccaagc cacgaccccc atggatgggc ctgctggggc 2040
caaccattca ggcagaggtt tacgacacag tcgtgatcac actgaagaac atggcctccc 2100
atccagtgtc tctgcacgcc gtcggtgtgt cctactggaa agcatccgag ggcgccgagt 2160
atgacgacca gaccagccag agagagaaag aggacgacaa agtgttccct ggaggcagcc 2220
acacctacgt gtggcaggtg ttgaaggaaa atgggcccat ggccagtgac cctttgtgtc 2280
tgacttactc atacctgtct catgtggatc tagtcaagga cctgaattct ggactgattg 2340
gggcactgct tgtgtgccgc gaaggcagcc tggccaaaga aaagacacag acccttcaca 2400
agttcatcct gctgttcgcc gtgttcgacg aaggcaaatc ctggcactca gaaaccaaaa 2460
actcactgat gcaggaccgg gatgccgcct ctgcccgcgc atggccaaaa atgcacaccg 2520
tcaacggcta tgtcaataga agtttgcccg gcctcattgg atgtcacagg aaaagcgtct 2580
attggcatgt aatcgggatg ggaaccacac ctgaggtcca cagcatattt ctggaaggcc 2640
acacatttct ggtgagaaat catcgccagg cttccctgga aatttccccc atcaccttct 2700
tgaccgccca gacactgctc atggatcttg ggcagtttct gctgttttgt catatttctt 2760
ctcaccaaca cgacggaatg gaggcctacg ttaaggtcga tagttgccct gaagaacctc 2820
agctgaggat gaagaacaac gaggaagccg aggactacga tgacgatttg accgattccg 2880
aaatggacgt ggtgcgcttt gatgatgaca attctccatc cttcattcag attagatccg 2940
tcgccaagaa gcaccccaag acctgggtgc actacattgc agccgaggag gaggattggg 3000
actacgcccc cctggtgctg gcacccgacg accgaagcta caaatctcag tacctgaaca 3060
atggtccaca acggatcggc aggaagtaca agaaagtgcg gttcatggcc tatacagacg 3120
aaaccttcaa aaccagggag gctatccagc acgagtctgg gattctggga ccactcctgt 3180
acggcgaagt gggcgacacc ttgttaatta tcttcaagaa ccaggctagt agaccttata 3240
acatttatcc ccacggcatt accgatgtgc ggcctctcta ctctaggcgg cttccaaagg 3300

gggtgaaaca cctgaaggac tttcccatcc tccctggcga aatctttaag tataagtgga 3360
cagtgaccgt ggaggatgga ccaaccaaga gcgaccccag gtgcctgaca cgctattatt 3420
caagcttcgt gaatatggaa agggacctcg catctggctt gatcggccct ctgctgatat 3480
gttacaagga aagcgtcgat cagagaggaa atcagatcat gtcagacaaa aggaatgtga 3540
tcctgttctc cgtcttcgat gaaaacagga gctggtatct gacagagaac atccagagat 3600
tcctgccaaa tcccgccggc gtccagctgg aggacccgga gtttcaggca tctaacatca 3660
tgcattccat taatggttac gtgttcgact ccctgcagct gagcgtgtgc ctccacgagg 3720
tggcctactg gtacatcttg agcatcggcg cccagaccga ctttctgagc gtctttttct 3780
ccgggtatac tttcaaacat aagatggtgt acgaagatac tctgacgctg ttccctttct 3840
ctggggagac tgtgtttatg tctatggaga accctggact gtggattctc ggatgccaca 3900
acagtgactt tcgtaataga gggatgactg cactgctgaa ggtgtccagc tgtgataaaa 3960
atactggcga ctactacgaa gatagctatg aggatatctc agcatacctg ctgagcaaga 4020
ataacgccat cgagccccga agcttctcac agaatccccc tgtcctcaag gcccaccagg 4080
cggagatcac aaggaccaca ctccagtccg accaggagga gattgactac gatgacacga 4140
tttctgtgga gatgaaaaaa gaggactttg acatctacga tgaggatgaa aaccagagcc 4200
ctaggtcgtt ccagaagaaa acaaggcact acttcattgc cgccgtggag agactgtggg 4260
actacggaat gagtagttcc ccacacgtgt tgcggaacag agcccagagt gggtccgtcc 4320
cacagttcaa gaaggttgtt ttccaggagt tcacagatgg ctccttcact cagccactgt 4380
atcgcggcga gctgaatgag cacttgggct tattgggccc ctacattcgc gcagaagtcg 4440
aagataatat tatggtgacc ttccgcaacc aggccagccg gccttactca ttctactcct 4500
ctctcatctc ttatgaggag gatcagcgcc agggcgccga accccggaag aactttgtga 4560
agcccaatga aaccaaaact tacttttgga aggtgcagca ccatatggcg ccgacgaaag 4620
acgaatttga ctgcaaagcc tgggcctact tcagcgacgt cgacttggag aaggacgtcc 4680
acagcggcct gattggccct ttgttggtct gccataccaa tacactcaac cctgcccacg 4740
ggaggcaggt gaccgtgcag gagtttgcct tgttcttcac catcttcgac gaaaccaaga 4800
gctggtactt cacagagaac atggagagga actgcagagc accctgtaac atccagatgg 4860
aggaccctac tttcaaggaa aattacaggt tccatgccat taatggctac atcatggata 4920
ccctccccgg gcttgtgatg gctcaggacc agcgcatccg ctggtacctg ctctcaatgg 4980
gctccaacga gaacattcat agcatccact ttagtggcca cgtgtttacc gtgcgcaaga 5040
aggaggagta caagatggca ctgtacaacc tgtaccctgg cgtgtttgag acagtggaga 5100
tgctgccatc caaggccggc atctggcgcg tggagtgcct cattggggag cacctccatg 5160
ctggcatgtc tacactgttc ctggtgtaca gcaacaagtg tcagactcca ctcggaatgg 5220
cctccgggca tatccgcgat tttcagatca cggcctctgg ccagtatggc caatgggctc 5280
ccaagctggc caggctgcac tacagtggga gtatcaacgc ttggagcacc aaggagcctt 5340
tctcctggat caaggtggac ctgcttgccc ccatgattat tcacggcatt aagacacagg 5400
gggccaggca gaaattctcc tccctgtaca tctcccagtt catcatcatg tacagtctgg 5460
acggcaaaaa gtggcagacc taccgcggga acagtaccgg gacattgatg gtgttcttcg 5520
ggaacgtgga ctctagcggc attaaacaca acattttcaa ccccccccatc attgctaggt 5580
atatcaggct ccatcccacc cactatagca tcaggtccac tctgcggatg gagctgatgg 5640

gctgcgacct taattcatgc agcatgccgc tgggcatgga gtcaaaggcc atctccgacg 5700
cccaaatcac cgcctccagc tacttcacca atatgttcgc cacctggagc cccagcaagg 5760
cccggctgca cctgcagggc cgcagcaacg cctggcggcc tcaggtgaac aaccccaagg 5820
agtggctgca ggtggacttc cagaaaacca tgaaggtgac tggggtcacc acccagggag 5880
tcaagagcct gctgaccagc atgtatgtga aggagttctt gatcagctcg tcacaggatg 5940
gccaccagtg gactttgttc tttcagaacg gtaaggtgaa agtgttccag ggaaaccaag 6000
attcctttac accagtggtc aactctctgg atcctcccct gctgacacgg tacctgcgga 6060
tccatcccca gtcatgggtg caccagattg ctctgcgcat ggaggtgctt ggctgcgagg 6120
cccaggacct gtactgaaat tcgcggccgc taaacccagc tttcttgtac aaagtggcaa 6180
ctttattata catagttgat cctcaggtgc aggctgccta tcagaaggtg gtggctggtg 6240
tggccaatgc cctggctcac aaataccact gagatctttt tccctctgcc aaaaattatg 6300
gggacatcat gaagcccctt gagcatctga cttctggcta ataaaggaaa tttattttca 6360
ttgcaatagt gtgttggaat tttttgtgtc tctcactcgg aaggacatat gggagggcaa 6420
atcatttaaa acatcagaat gagtatttgg tttagagttt ggcaacatat gcccatatgc 6480
tggctgccat gaacaaaggt tggctataaa gaggtcatca gtatatgaaa cagccccctg 6540
ctgtccattc cttattccat agaaaagcct tgacttgagg ttagattttt tttatatttt 6600
gttttgtgtt attttttttct ttaacatccc taaaattttc cttacatgtt ttactagcca 6660
gatttttcct cctctcctga ctactcccag tcatagctgt ccctcttctc ttatggagat 6720
c 6721

<210> 28
<211> 3733
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多核苷酸"
<400> 28

ctcgacattg attattgact agttattaat agtaatcaat tacggggtca ttagttcata 60
gcccatatat ggagttccgc gttacataac ttacggtaaa tggcccgcct ggctgaccgc 120
ccaacgaccc ccgcccattg acgtcaataa tgacgtatgt tcccatagta acgccaatag 180
ggactttcca ttgacgtcaa tgggtggagt atttacggta aactgcccac ttggcagtac 240
atcaagtgta tcatatgcca agtacgcccc ctattgacgt caatgacggt aaatggcccg 300
cctggcatta tgcccagtac atgaccttat gggactttcc tacttggcag tacatctacg 360
tattagtcat cgctattacc atggtcgagg tgagccccac gttctgcttc actctcccca 420
tctccccccc ctccccaccc ccaattttgt atttatttat tttttaatta ttttgtgcag 480
cgatgggggc ggggggggcg gggggcgcgg cgccaggcgg ggcggggcgg ggcgaggggc 540
ggggcggggc gaggcggaga ggtgcggcgg cagccaatca gagcggcgcg ctccgaaagt 600
ttccttttat ggcgaggcgg cggcggcggc ggccctataa aaagcgaagc gcgcggcggg 660

cgggagtcgc tgcgcgctgc cttcgccccg tgccccgctc cgccgccgcc tcgcgccgcc 720
cgccccggct ctgactgacc gcgttactcc cacaggtgag cgggcgggac ggcccttctc 780
ctccgggctg taattagcgc ttggtttaat gacggcttgt ttcttttctg tggctgcgtg 840
aaagccttga ggggctccgg gagggccctt tgtgcggggg gagcggctcg gggggtgcgt 900
gcgtgtgtgt gtgcgtgggg agcgccgcgt gcggctccgc gctgcccggc ggctgtgagc 960
gctgcgggcg cggcgcgggg ctttgtgcgc tccgcagtgt gcgcgagggg agcgcggccg 1020
ggggcggtgc cccgcggtgc gggggggggct gcgaggggaa caaaggctgc gtgcggggtg 1080
tgtgcgtggg ggggtgagca gggggtgtgg gcgcgtcggt cgggctgcaa ccccccctgc 1140
acccccctcc ccgagttgct gagcacggcc cggcttcggg tgcggggctc cgtacggggc 1200
gtggcgcggg gctcgccgtg ccgggcgggg ggtggcggca ggtgggggtg ccgggcgggg 1260
cggggccgcc tcgggccggg gagggctcgg gggaggggcg cggcggcccc cggagcgccg 1320
gcggctgtcg aggcgcggcg agccgcagcc attgcctttt atggtaatcg tgcgagaggg 1380
cgcagggact tcctttgtcc caaatctgtg cggagccgaa atctgggagg cgccgccgca 1440
ccccctctag cgggcgcggg gcgaagcggt gcggcgccgg caggaaggaa atgggcgggg 1500
agggccttcg tgcgtcgccg cgccgccgtc cccttctccc tctccagcct cggggctgtc 1560
cgcgggggga cggctgcctt cgggggggac ggggcagggc ggggttcggc ttctggcgtg 1620
tgaccggcgg ctctagagcc tctgctaacc atgttcatgc cttcttcttt ttcctacagc 1680
tcctgggcaa cgtgctggtt attgtgctgt ctcatcattt tggcaaagaa ttgcaagttt 1740
gtacaaaaaa gcaggctgcc accatgcagc gcgtgaacat gattatggcc gagtctcccg 1800
gcctgatcac catctgtctg ctgggctatc tgctgagcgc cgagtgcacc gtgtttctgg 1860
atcacgagaa cgccaacaag atcctgaaca gacccaagcg gtacaacagc ggcaagctgg 1920
aagagttcgt gcagggcaac ctggaacgcg agtgcatgga agagaagtgc agcttcgaag 1980
aggccagaga ggtgttcgag aacaccgaga gaaccaccga gttctggaag cagtacgtgg 2040
acggcgatca gtgcgagagc aacccttgtc tgaatggcgg cagctgcaag gacgacatca 2100
acagctacga gtgctggtgc cccttcggct tcgagggcaa gaattgcgag ctggacgtga 2160
cctgcaacat caagaacggc agatgcgagc agttctgcaa gaacagcgcc gacaacaagg 2220
tcgtgtgctc ctgcacagag ggctacagac tggccgagaa ccagaagtct tgcgagcccg 2280
ctgtgccctt tccatgtggc agagtgtctg tgtcccagac cagcaagctg accagagccg 2340
agacagtgtt ccccgacgtg gactacgtga acagcaccga ggccgagaca atcctggaca 2400
acatcaccca gagcacccag tccttcaacg acttcaccag agtcgtcggc ggcgaggatg 2460
ctaagcctgg acagtttcct tggcaagtgg tgctgaacgg caaggtggac gctttttgtg 2520
gcggctccat cgtgaacgag aagtggatcg tgaccgccgc tcactgtgtg gaaaccggcg 2580
tgaagattac agtggtggcc ggcgagcaca acatcgagga aacagagcac accgagcaga 2640
aacggaacgt gatcagaatc atccctcacc acaactacaa cgccgccatc aacaagtaca 2700
accacgatat cgccctgctg gaactggacg agcccctggt cctgaactct tacgtgaccc 2760
ctatctgtat cgccgacaaa gagtacacca acatctttct gaagttcggc agcggctacg 2820
tgtccggctg gggaagagtt ttccacaagg gcagatcagc cctggtgctg cagtacctga 2880
gagtgcccct ggtggataga gccacatgcc tgctgagcac caagttcacc atctacaaca 2940
acatgttctg cgccggcttc cacgaaggcg gcagagattc ttgtcaaggc gattctggcg 3000

gccctcacgt gacagaggtt gagggcacaa gctttctgac cggcatcatc agctggggcg 3060
aagagtgtgc catgaagggg aagtacggca tctacaccaa ggtgtccaga tacgtgaact 3120
ggatcaaaga aaagaccaag ctcacctgaa attcgcggcc gctaaaccca gctttcttgt 3180
acaaagtggc aactttatta tacatagttg atcctcaggt gcaggctgcc tatcagaagg 3240
tggtggctgg tgtggccaat gccctggctc acaaatacca ctgagatctt tttccctctg 3300
ccaaaaatta tggggacatc atgaagcccc ttgagcatct gacttctggc taataaagga 3360
aatttatttt cattgcaata gtgtgttgga attttttgtg tctctcactc ggaaggacat 3420
atgggagggc aaatcattta aaacatcaga atgagtattt ggtttagagt ttggcaacat 3480
atgcccatat gctggctgcc atgaacaaag gttggctata aagaggtcat cagtatatga 3540
aacagccccc tgctgtccat tccttattcc atagaaaagc cttgacttga ggttagattt 3600
tttttatatt ttgttttgtg ttatttttt ctttaacatc cctaaaattt tccttacatg 3660
ttttactagc cagatttttc ctcctctcct gactactccc agtcatagct gtccctcttc 3720
tcttatggag atc 3733

<210> 29
<211> 153
<212> PRT
<213> 智人
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(20)
<223> /注="信号序列"
<400> 29

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

130 135 140
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr
145 150
<210> 30
<211> 65
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(25)
<223> /注="信号序列"
<400> 30
Met Ile Pro Ala Lys Asp Met Ala Lys Val Met Ile Val Met Leu Ala
1 5 10 15
Ile Cys Phe Leu Thr Lys Ser Asp Gly Lys Ser Val Lys Lys Arg Ser
20 25 30
Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu Gly Lys His Leu Asn Ser
35 40 45
Met Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His Asn
50 55 60
Phe
65
<210> 31
<211> 115
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成
多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(25)
<223> /注="信号序列"
<400> 31

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

<210> 32
<211> 506
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(22)
<223> /注="信号序列"
<400> 32
Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile
1 5 10 15
Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ser Leu Ser Cys Arg Pro Pro Met Val Lys
20 25 30
Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu Gly Leu Glu Cys Thr
35 40 45
Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met Ser Met Gly Cys Val
50 55 60
Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg His Glu Asn Arg Cys
65 70 75 80

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

385 390 395 400
Cys Glu Trp Arg Tyr Asn Ser Cys Ala Pro Ala Cys Gln Val Thr Cys
405 410 415
Gln His Pro Glu Pro Leu Ala Cys Pro Val Gln Cys Val Glu Gly Cys
420 425 430
His Ala His Cys Pro Pro Gly Lys Ile Leu Asp Glu Leu Leu Gln Thr
435 440 445
Cys Val Asp Pro Glu Asp Cys Pro Val Cys Glu Val Ala Gly Arg Arg
450 455 460
Phe Ala Ser Gly Lys Lys Val Thr Leu Asn Pro Ser Asp Pro Glu His
465 470 475 480
Cys Gln Ile Cys His Cys Asp Val Val Asn Leu Thr Cys Glu Ala Cys
485 490 495
Gln Glu Pro Gly Gly Leu Val Val Pro Pro
500 505

<210> 33
<211> 1247
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成多肽"
<220>
<221> 位置
<222> (1)..(22)
<223> /注="信号序列"
<400> 33
Met Ile Pro Ala Arg Phe Ala Gly Val Leu Leu Ala Leu Ala Leu Ile
1 5 10 15
Leu Pro Gly Thr Leu Cys Ala Glu Gly Thr Arg Gly Arg Ser Ser Thr
20 25 30
Ala Arg Cys Ser Leu Phe Gly Ser Asp Phe Val Asn Thr Phe Asp Gly
35 40 45
Ser Met Tyr Ser Phe Ala Gly Tyr Cys Ser Tyr Leu Leu Ala Gly Gly
50 55 60
Cys Gln Lys Arg Ser Phe Ser Ile Ile Gly Asp Phe Gln Asn Gly Lys
65 70 75 80
Arg Val Ser Leu Ser Val Tyr Leu Gly Glu Phe Phe Asp Ile His Leu

85 90 95

Phe Val Asn Gly Thr Val Thr Gln Gly Asp Gln Arg Val Ser Met Pro
100 105 110

Tyr Ala Ser Lys Gly Leu Tyr Leu Glu Thr Glu Ala Gly Tyr Tyr Lys
115 120 125

Leu Ser Gly Glu Ala Tyr Gly Phe Val Ala Arg Ile Asp Gly Ser Gly
130 135 140

Asn Phe Gln Val Leu Leu Ser Asp Arg Tyr Phe Asn Lys Thr Cys Gly
145 150 155 160

Leu Cys Gly Asn Phe Asn Ile Phe Ala Glu Asp Asp Phe Met Thr Gln
165 170 175

Glu Gly Thr Leu Thr Ser Asp Pro Tyr Asp Phe Ala Asn Ser Trp Ala
180 185 190

Leu Ser Ser Gly Glu Gln Trp Cys Glu Arg Ala Ser Pro Pro Ser Ser
195 200 205

Ser Cys Asn Ile Ser Ser Gly Glu Met Gln Lys Gly Leu Trp Glu Gln
210 215 220

Cys Gln Leu Leu Lys Ser Thr Ser Val Phe Ala Arg Cys His Pro Leu
225 230 235 240

Val Asp Pro Glu Pro Phe Val Ala Leu Cys Glu Lys Thr Leu Cys Glu
245 250 255

Cys Ala Gly Gly Leu Glu Cys Ala Cys Pro Ala Leu Leu Glu Tyr Ala
260 265 270

Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp His
275 280 285

Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met Glu Tyr Arg Gln Cys
290 295 300

Val Ser Pro Cys Ala Arg Thr Cys Gln Ser Leu His Ile Asn Glu Met
305 310 315 320

Cys Gln Glu Arg Cys Val Asp Gly Cys Ser Cys Pro Glu Gly Gln Leu
325 330 335

Leu Asp Glu Gly Leu Cys Val Glu Ser Thr Glu Cys Pro Cys Val His
340 345 350

Ser Gly Lys Arg Tyr Pro Pro Gly Thr Ser Leu Ser Arg Asp Cys Asn
355 360 365

Thr Cys Ile Cys Arg Asn Ser Gln Trp Ile Cys Ser Asn Glu Glu Cys
370 375 380

Pro Gly Glu Cys Leu Val Thr Gly Gln Ser His Phe Lys Ser Phe Asp
385 390 395 400

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

705 710 715 720
Ile Phe Ser Asp His His Thr Met Cys Tyr Cys Glu Asp Gly Phe Met
725 730 735
His Cys Thr Met Ser Gly Val Pro Gly Ser Leu Leu Pro Asp Ala Val
740 745 750
Leu Ser Ser Pro Leu Ser His Arg Ser Lys Arg Ser Leu Ser Cys Arg
755 760 765
Pro Pro Met Val Lys Leu Val Cys Pro Ala Asp Asn Leu Arg Ala Glu
770 775 780
Gly Leu Glu Cys Thr Lys Thr Cys Gln Asn Tyr Asp Leu Glu Cys Met
785 790 795 800
Ser Met Gly Cys Val Ser Gly Cys Leu Cys Pro Pro Gly Met Val Arg
805 810 815
His Glu Asn Arg Cys Val Ala Leu Glu Arg Cys Pro Cys Phe His Gln
820 825 830
Gly Lys Glu Tyr Ala Pro Gly Glu Thr Val Lys Ile Gly Cys Asn Thr
835 840 845
Cys Val Cys Arg Asp Arg Lys Trp Asn Cys Thr Asp His Val Cys Asp
850 855 860
Ala Thr Cys Ser Thr Ile Gly Met Ala His Tyr Leu Thr Phe Asp Gly
865 870 875 880
Leu Lys Tyr Leu Phe Pro Gly Glu Cys Gln Tyr Val Leu Val Gln Asp
885 890 895
Tyr Cys Gly Ser Asn Pro Gly Thr Phe Arg Ile Leu Val Gly Asn Lys
900 905 910
Gly Cys Ser His Pro Ser Val Lys Cys Lys Lys Arg Val Thr Ile Leu
915 920 925
Val Glu Gly Gly Glu Ile Glu Leu Phe Asp Gly Glu Val Asn Val Lys
930 935 940
Arg Pro Met Lys Asp Glu Thr His Phe Glu Val Val Glu Ser Gly Arg
945 950 955 960
Tyr Ile Ile Leu Leu Leu Gly Lys Ala Leu Ser Val Val Trp Asp Arg
965 970 975
His Leu Ser Ile Ser Val Val Leu Lys Gln Thr Tyr Gln Glu Lys Val
980 985 990
Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Gly Ile Gln Asn Asn Asp Leu Thr
995 1000 1005
Ser Ser Asn Leu Gln Val Glu Glu Asp Pro Val Asp Phe Gly Asn
1010 1015 1020

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

<210> 34
<211> 232
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<221> 来源
<223> /注="人工序列的描述:合成多肽"
<400> 34

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

<210> 35
<211> 585
<212> PRT
<213> 智人
<400> 35

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

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

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

<210> 36
<211> 415
<212> PRT
<213> 智人
<400> 36
Tyr Asn Ser Gly Lys Leu Glu Glu Phe Val Gln Gly Asn Leu Glu Arg
1 5 10 15
Glu Cys Met Glu Glu Lys Cys Ser Phe Glu Glu Ala Arg Glu Val Phe

20 25 30

Glu Asn Thr Glu Arg Thr Thr Glu Phe Trp Lys Gln Tyr Val Asp Gly

35 40 45

Asp Gln Cys Glu Ser Asn Pro Cys Leu Asn Gly Gly Ser Cys Lys Asp

50 55 60

Asp Ile Asn Ser Tyr Glu Cys Trp Cys Pro Phe Gly Phe Glu Gly Lys

65 70 75 80

Asn Cys Glu Leu Asp Val Thr Cys Asn Ile Lys Asn Gly Arg Cys Glu

85 90 95

Gln Phe Cys Lys Asn Ser Ala Asp Asn Lys Val Val Cys Ser Cys Thr

100 105 110

Glu Gly Tyr Arg Leu Ala Glu Asn Gln Lys Ser Cys Glu Pro Ala Val

115 120 125

Pro Phe Pro Cys Gly Arg Val Ser Val Ser Gln Thr Ser Lys Leu Thr

130 135 140

Arg Ala Glu Thr Val Phe Pro Asp Val Asp Tyr Val Asn Ser Thr Glu

145 150 155 160

Ala Glu Thr Ile Leu Asp Asn Ile Thr Gln Ser Thr Gln Ser Phe Asn

165 170 175

Asp Phe Thr Arg Val Val Gly Gly Glu Asp Ala Lys Pro Gly Gln Phe

180 185 190

Pro Trp Gln Val Val Leu Asn Gly Lys Val Asp Ala Phe Cys Gly Gly

195 200 205

Ser Ile Val Asn Glu Lys Trp Ile Val Thr Ala Ala His Cys Val Glu

210 215 220

Thr Gly Val Lys Ile Thr Val Val Ala Gly Glu His Asn Ile Glu Glu

225 230 235 240

Thr Glu His Thr Glu Gln Lys Arg Asn Val Ile Arg Ile Ile Pro His

245 250 255

His Asn Tyr Asn Ala Ala Ile Asn Lys Tyr Asn His Asp Ile Ala Leu

260 265 270

Leu Glu Leu Asp Glu Pro Leu Val Leu Asn Ser Tyr Val Thr Pro Ile

275 280 285

Cys Ile Ala Asp Lys Glu Tyr Thr Asn Ile Phe Leu Lys Phe Gly Ser

290 295 300

Gly Tyr Val Ser Gly Trp Gly Arg Val Phe His Lys Gly Arg Ser Ala

305 310 315 320

Leu Val Leu Gln Tyr Leu Arg Val Pro Leu Val Asp Arg Ala Thr Cys

325 330 335

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

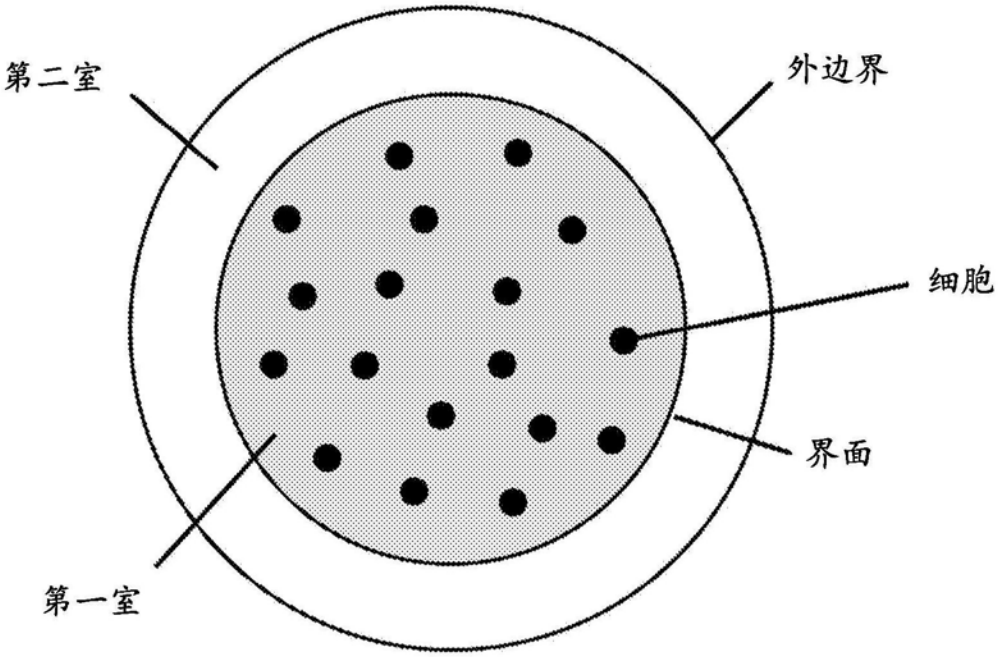


图1

SEQ ID NO: 1

*MQIELSTCFFLCLLRFCFS*ATRRYYLGAVELSWDYMQSDLGELPVDARFPPRVPKSFPFN
TSVVYKKTLFVEFTDHLFNIAKPRPPWMGLLGPTIQAEVYDTVVITLKNMASHPVSLHAV
GVSYWKASEGAEYDDQTSQREKEDDKVFPGGSHTYVWQVLKENGPMASDPLCLTYSYLSH
VDLVKDLNSGLIGALLVCREGSLAKEKTQTLHKFILLFAVFDEGKSWHSETKNSLMQDRD
AASARAWPKMHTVNGYVNRSLPGLIGCHRKSVYWHVIGMGTTPEVHSIFLEGHTFLVRNH
RQASLEISPITFLTAQTLLMDLGQFLLFCHISSHQHDGMEAYVKVDSCPEEPQLRMKNNE
EAEDYDDDLTDSEMDVVRFDDDNSPSFIQIRSVAKKHPKTWVHYIAAEEEDWDYAPLVLA
PDDRSYKSQYLNNGPQRIGRKYKKVRFMAYTDETFKTREAIQHESGILGPLLYGEVGDTL
LIIFKNQASRPYNIYPHGITDVRPLYSRRLPKGVKHLKDFPILPGEIFKYKWTVTVEDGP
TKSDPRCLTRYYSSFVNMERDLASGLIGPLLICYKESVDQRGNQIMSDKRNVILFSVFDE
NRSWYLTENIQRFLPNPAGVQLEDPEFQASNIMHSINGYVFDSLQLSVCLHEVAYWYILS
IGAQTDFLSVFFSGYTFKHKMVYEDTLTLFPFSGETVFMSMENPGLWILGCHNSDFRNRG
MTALLKVSSCDKNTGDYYEDSYEDISAYLLSKNNAIEPRSFSQNPPVLKRHQREITRTTL
QSDQEEIDYDDTISVEMKKEDFDIYDEDENQSPRSFQKKTRHYFIAAVERLWDYGMSSSP
HVLRNRAQSGSVPQFKKVVFQEFTDGSFTQPLYRGELNEHLGLLGPYIRAEVEDNIMVTF
RNQASRPYSFYSSLISYEEDQRQGAEPRKNFVKPNETKTYFWKVQHHMAPTKDEFDCKAW
AYFSDVDLEKDVHSGLIGPLLVCHTNTLNPAHGRQVTVQEFALFFTIFDETKSWYFTENM
ERNCRAPCNIQMEDPTFKENYRFHAINGYIMDTLPGLVMAQDQRIRWYLLSMGSNENIHS
IHFSGHVFTVRKKEEYKMALYNLYPGVFETVEMLPSKAGIWRVECLIGEHLHAGMSTLFL
VYSNKCQTPLGMASGHIRDFQITASGQYGQWAPKLARLHYSGSINAWSTKEPFSWIKVDL
LAPMIIHGIKTQGARQKFSSLYISQFIIMYSLDGKKWQTYRGNSTGTLMVFFGNVDSSGI
KHNIFNPPIIARYIRLHPTHYSIRSTLRMELMGCDLNSCSMPLGMESKAISDAQITASSY
FTNMFATWSPSKARLHLQGRSNAWRPQVNNPKEWLQVDFQKTMKVTGVTTQGVKSLLTSM
YVKEFLISSSQDGHQWTLFFQNGKVKVFQGNQDSFTPVVNSLDPPLLTRYLRIHPQSWVH
QIALRMEVLGCEAQDLY

图2A

SEQ ID NO: 2

YNSGKLEEFVQGNLERECMEEKCSFEEAREVFENTERTTEFWKQYVDGDQCESNPCLNG
GSCKDDINSYECWCPFGFEGKNCELDVTCNIKNGRCEQFCKNSADNKVVCSCTEGYRLA
ENQKSCEPAVPFPCGRVSVSQTSKLTRAETVFPDVDYVNSTEAETILDNITQSTQSFND
FTRVVGGEDAKPGQFPWQVVLNGKVDAFCGGSIVNEKWIVTAAHCVETGVKITVVAGEH
NIEETEHTEQKRNVIRIIPHHNYNAAINKYNHDIALLELDEPLVLNSYVTPICIADKEY
TNIFLKFGSGYVSGWGRVFHKGRSALVLQYLRVPLVDRATCLRSTKFTIYNNMFCAGFH
EGGRDSCQGDSGGPHVTEVEGTSFLTGIISWGEECAMKGKYGIYTKVSRYVNWIKEKTK
LT

图2B

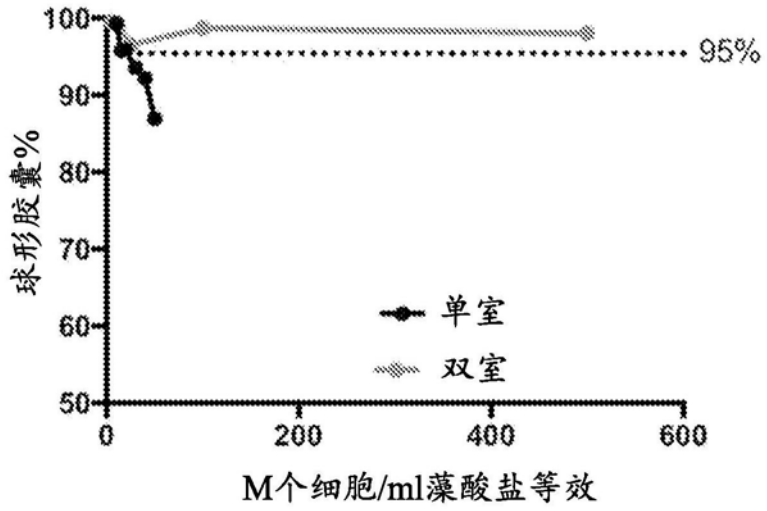

100
90
80
70
60
50
球形胶囊%
95%
单室
双室
0
200
400
600
M个细胞/ml藻酸盐等效

图3

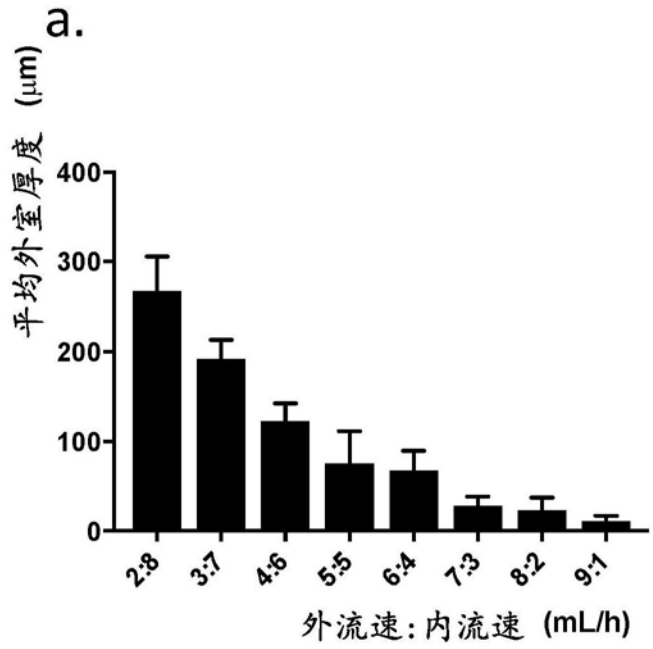

a.
平均外室厚度 (μm)
400
300
200
100
0
2:8
3:7
4:6
5:5
6:4
7:3
8:2
9:1
外流速:内流速 (mL/h)

图4A

b.

内室 %	外室 %	外室厚度 (∝m)
20	80	267
30	70	192
40	60	122
50	50	75
60	40	68
70	30	28
80	20	23
90	10	11

图4B

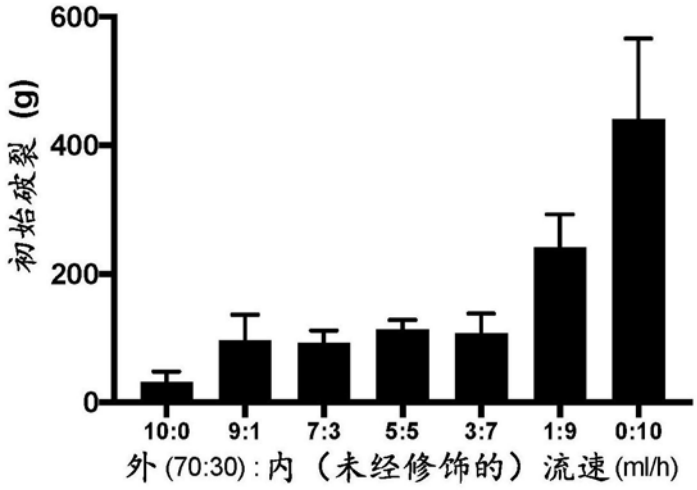


图5

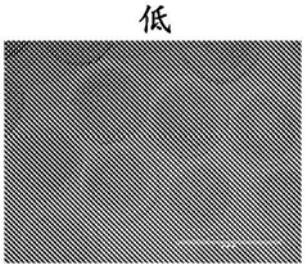


图6A

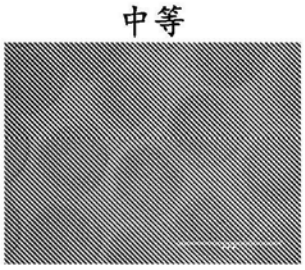


图6B

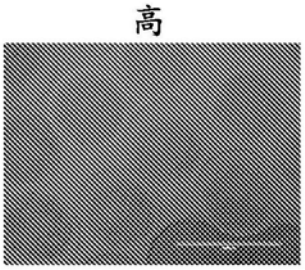


图6C

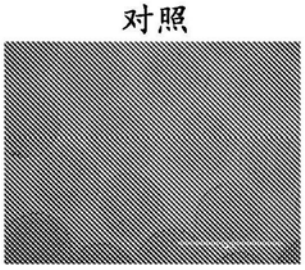


图6D

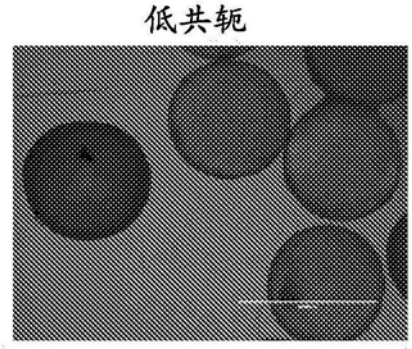


图7A

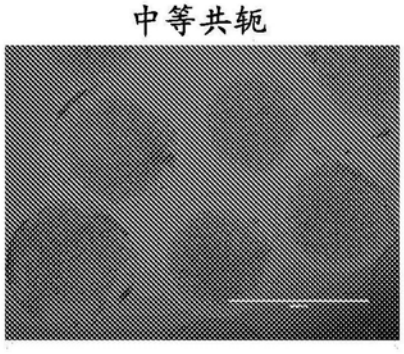


图7B

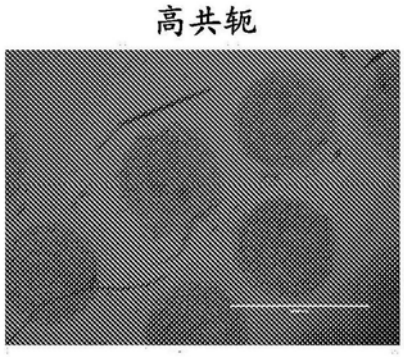


图7C

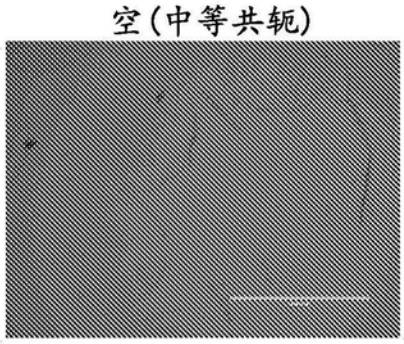


图7D

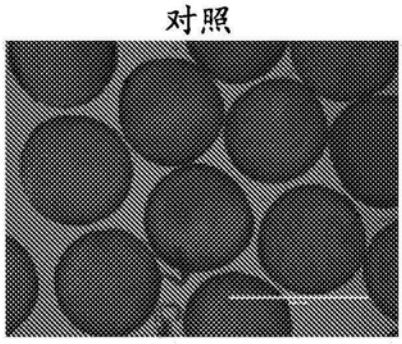


图7E

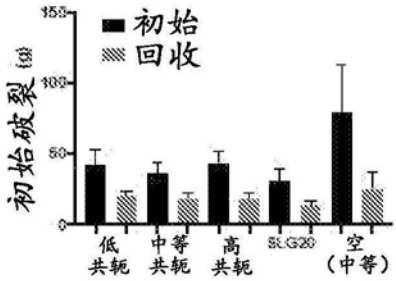


图7F

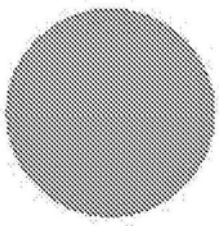


图8A

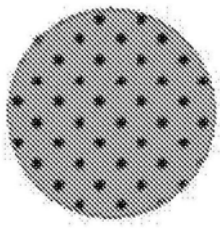


图8B

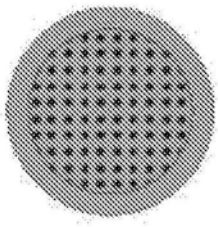


图8C

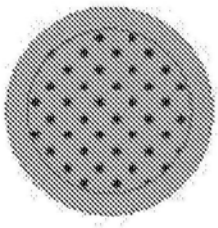


图8D

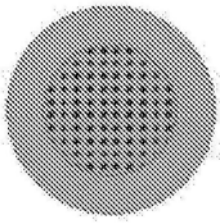


图8E

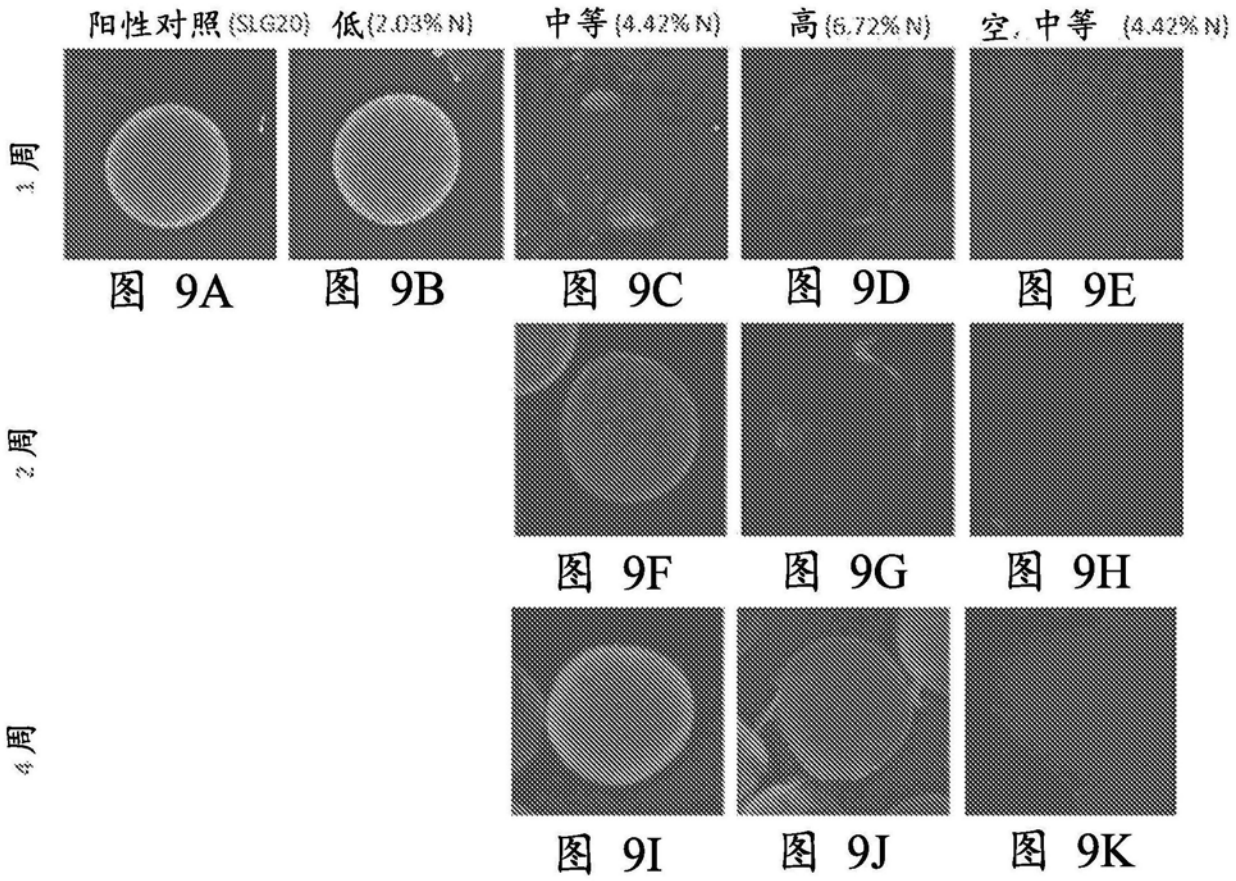


图 9A 图 9B 图 9C 图 9D 图 9E

图 9F 图 9G 图 9H

图 9I 图 9J 图 9K

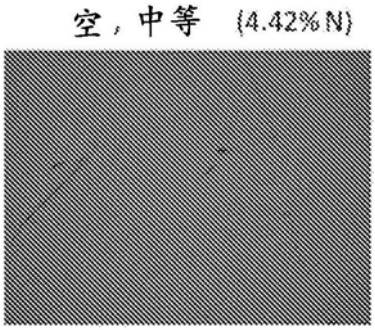


图10A

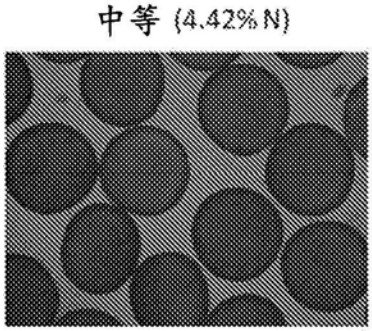


图10B

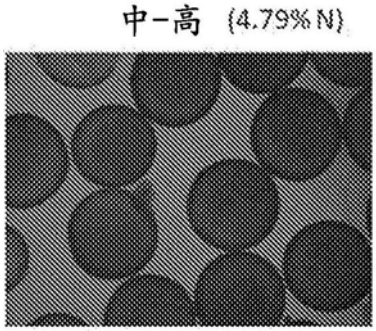


图10C

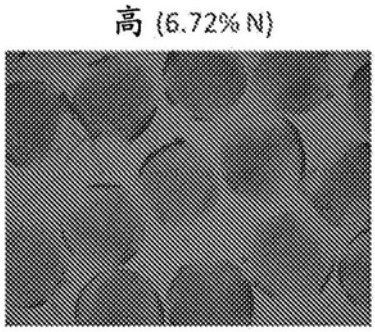


图10D

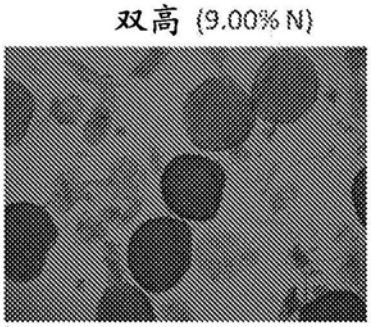


图10E

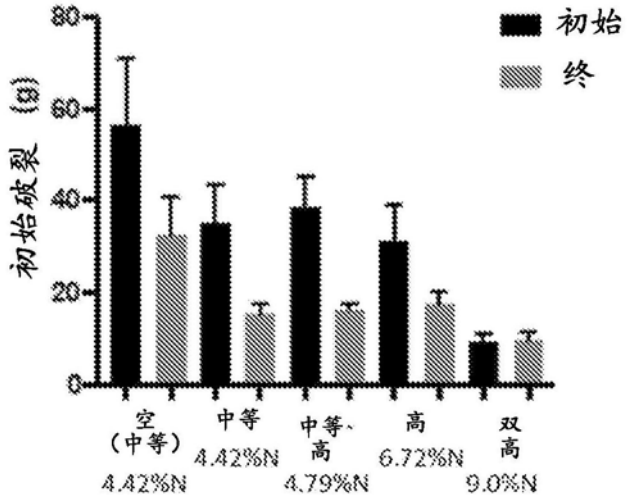


图11

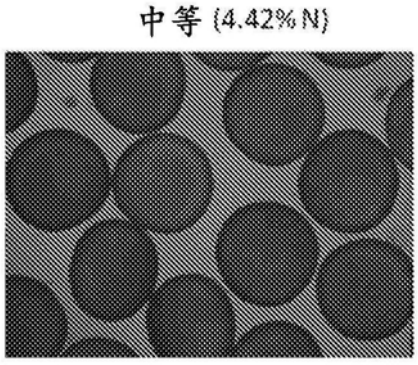


图12A

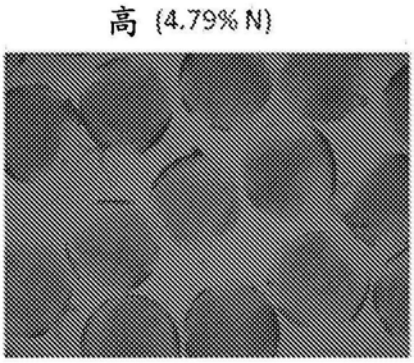


图12B

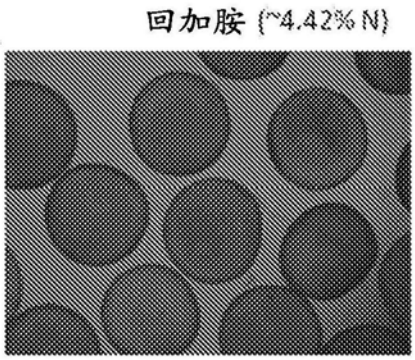
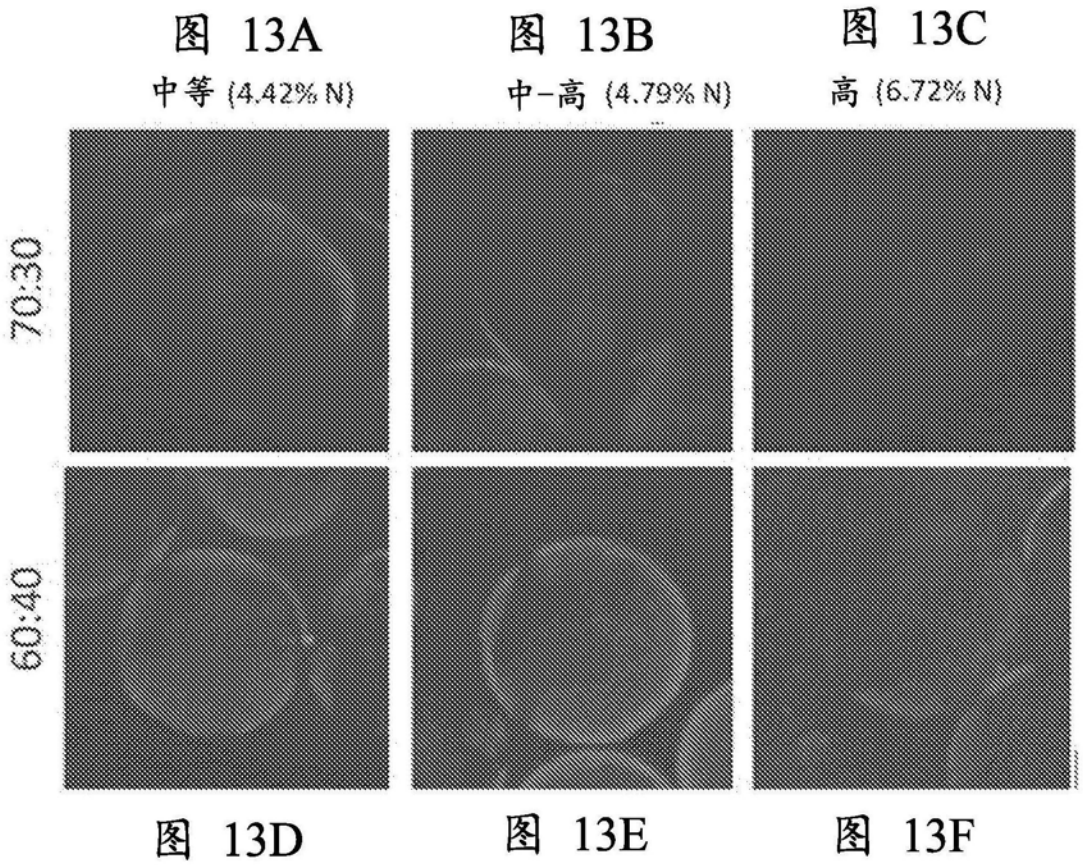


图12C


图 13A
中等 (4.42% N)
图 13B
中-高 (4.79% N)
图 13C
高 (6.72% N)
70:30
60:40
图 13D
图 13E
图 13F

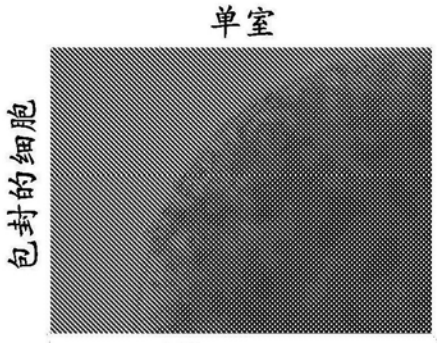

单室
包封的细胞

图14A

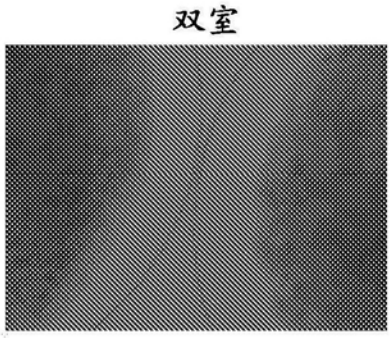


图14B

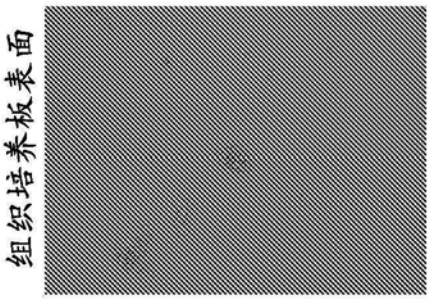


图14C

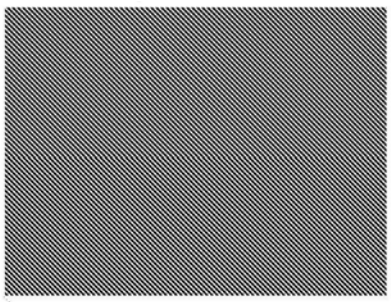


图14D

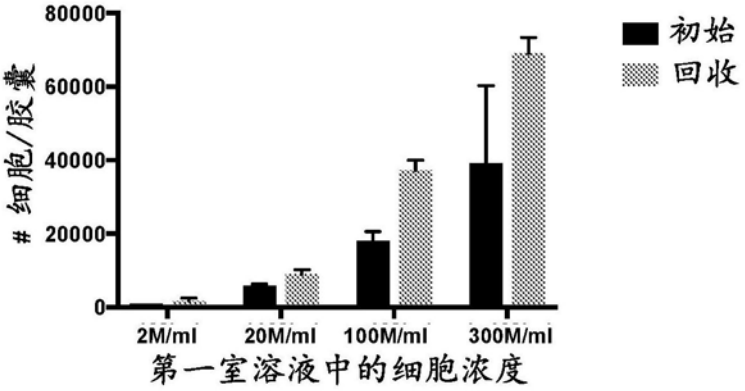


图15A

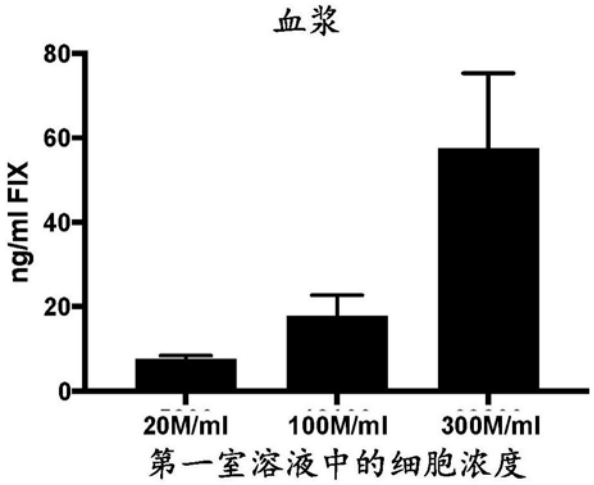


图15B

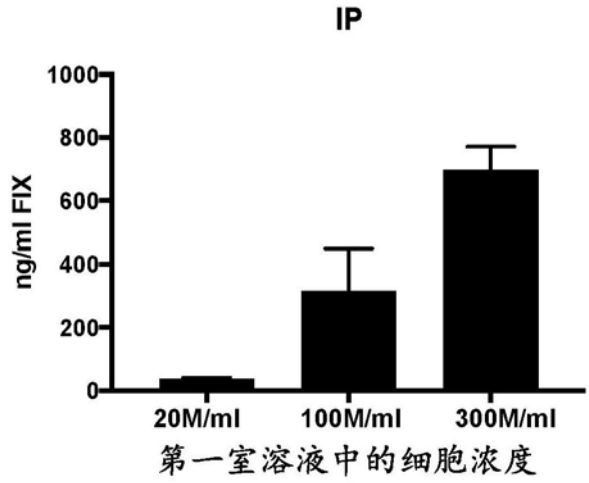


图15C

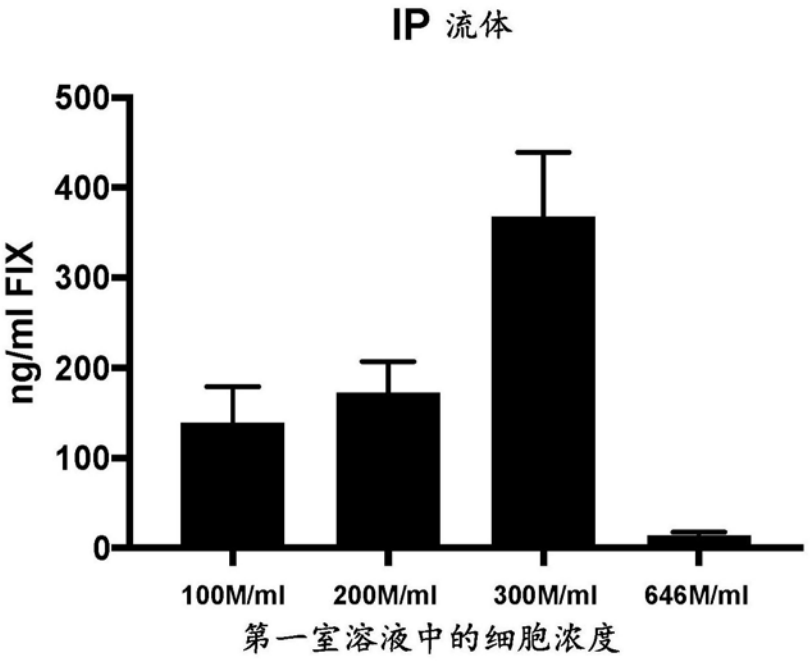

IP 流体
500
400
300
200
100
0
ng/ml FIX
100M/ml
200M/ml
300M/ml
646M/ml
第一室溶液中的细胞浓度

图16A

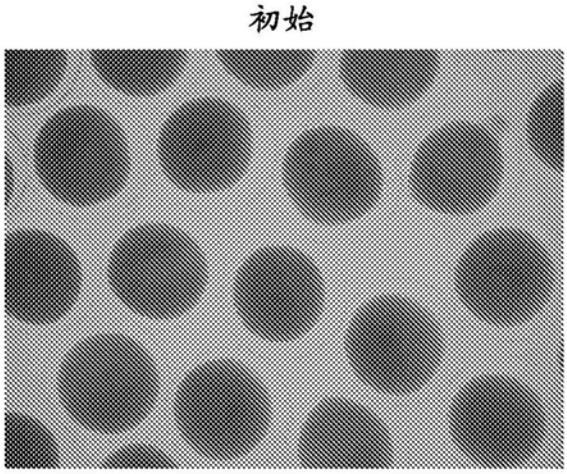

初始

图16B

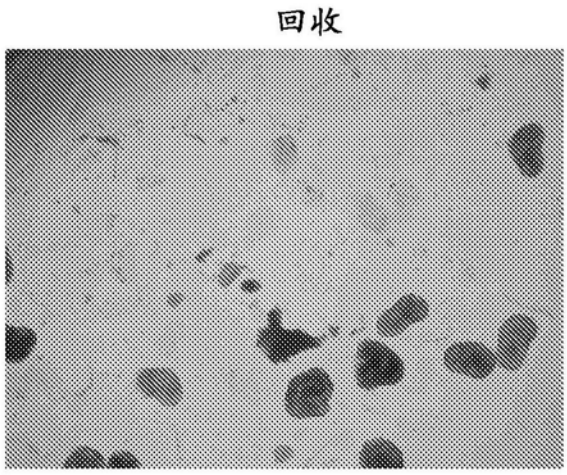


图16C

表 4-8

表 4:

SEQ ID NO.	蛋白	氨基酸序列
1	rhFVIII-BDD	MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRRYYLGAVE LSWDYMQSDL GELPVDARFP PRVPKSFPFN TSVVYKKTLF VEFTDHLFNI AKPRPPWMGL LGPTIQAEVY DTVVITLKNM ASHPVSLHAV GVSYWKASEG AEYDDQTSQR EKEDDKVFPG GSHTYVWQVL KENGPMASDP LCLTYSYLSH VDLVKDLNSG LIGALLVCRE GSLAKEKTQT LHKFILLFAV FDEGKSWHSE TKNSLMQDRD AASARAWPKM HTVNGYVNRS LPGLIGCHRK SVYWHVIGMG TTPEVHSIFL EGHTFLVRNH RQASLEISPI TFLTAQTLLM DLGQFLLFCH ISSHQHDGME AYVKVDSCPE EPQLRMKNNE EAEDYDDDLT DSEMDVVRFD DDNSPSFIQI RSVAKKHPKT WVHYIAAEEE DWDYAPLVLA PDDRSYKSQY LNNGPQRIGR KYKKVRFMAY TDETFKTREA IQHESGILGP LLYGEVGDTL LIIFKNQASR PYNIYPHGIT DVRPLYSRRL PKGVKHLKDF PILPGEIFKY KWTVTVEDGP TKSDPRCLTR YYSSFVNMER DLASGLIGPL LICYKESVDQ RGNQIMSDKR NVILFSVFDE NRSWYLTENI QRFLPNPAGV QLEDPEFQAS NIMHSINGYV FDSLQLSVCL HEVAYWYILS IGAQTDFLSV FFSGYTFKHK MVYEDTLTLF PFSGETVFMS MENPGLWILG CHNSDFRNRG MTALLKVSSC DKNTGDYYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FSQNPPVLKR HQREITRTTL QSDQEEIDYD DTISVEMKKE DFDIYDEDEN QSPRSFQKKT RHYFIAAVER LWDYGMSSSP HVLRNRAQSG SVPQFKKVVF QEFTDGSFTQ PLYRGELNEH LGLLGPYIRA EVEDNIMVTF RNQASRPYSF YSSLISYEED QRQGAEPRKN FVKPNETKTY FWKVQHHMAP TKDEFDCKAW AYFSDVDLEK DVHSGLIGPL LVCHTNTLNP AHGRQVTVQE FALFFTIFDE TKSWYFTENM ERNCRAPCNI QMEDPTFKEN YRFHAINGYI MDTLPGLVMA QDQRIRWYLL SMGSNENIHS IHFSGHVFTV RKKEEYKMAL YNLYPGVFET VEMLPSKAGI WRVECLIGEH LHAGMSTLFL VYSNKCQTPL GMASGHIRDF QITASGQYGQ WAPKLARLHY SGSINAWSTK EPFSWIKVDL LAPMIIHGIK TQGARQKFSS LYISQFIIMY SLDGKKWQTY RGNSTGTLMV FFGNVDSSGI KHNIFNPPII ARYIRLHPTH YSIRSTLRME LMGCDLNSCS MPLGMESKAI SDAQITASSY FTNMFATWSP SKARLHLQGR SNAWRPQVNN PKEWLQVDFQ KTMKVTGVTT QGVKSLLTSM YVKEFLISSS QDGHQWTLFF QNGKVKVFQG NQDSFTPVVN SLDPPLLTRY LRIHPQSWVH QIALRMEVLG CEAQDLY
3	rhScFVIII-BDD 1	MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRRYYLGAVE LSWDYMQSDL GELPVDARFP PRVPKSFPFN TSVVYKKTLF VEFTDHLFNI AKPRPPWMGL LGPTIQAEVY DTVVITLKNM ASHPVSLHAV GVSYWKASEG AEYDDQTSQR EKEDDKVFPG GSHTYVWQVL KENGPMASDP LCLTYSYLSH VDLVKDLNSG LIGALLVCRE GSLAKEKTQT LHKFILLFAV FDEGKSWHSE TKNSLMQDRD AASARAWPKM HTVNGYVNRS LPGLIGCHRK SVYWHVIGMG TTPEVHSIFL EGHTFLVRNH RQASLEISPI TFLTAQTLLM DLGQFLLFCH ISSHQHDGME AYVKVDSCPE EPQLRMKNNE EAEDYDDDLT DSEMDVVRFD DDNSPSFIQI RSVAKKHPKT WVHYIAAEEE DWDYAPLVLA PDDRSYKSQY LNNGPQRIGR KYKKVRFMAY TDETFKTREA IQHESGILGP LLYGEVGDTL LIIFKNQASR PYNIYPHGIT DVRPLYSRRL PKGVKHLKDF PILPGEIFKY KWTVTVEDGP TKSDPRCLTR YYSSFVNMER DLASGLIGPL LICYKESVDQ RGNQIMSDKR NVILFSVFDE NRSWYLTENI QRFLPNPAGV QLEDPEFQAS NIMHSINGYV FDSLQLSVCL HEVAYWYILS IGAQTDFLSV FFSGYTFKHK MVYEDTLTLF PFSGETVFMS

		MENPGLWILG CHNSDFRNRG MTALLKVSSC DKNTGDYYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FSQNPPVLKH HQREITRTTL QSDQEEIDYD DTISVEMKKE DFDIYDEDEN QSPRSFQKKT RHYFIAAVER LWDYGMSSSP HVLRNRAQSG SVPQFKKVVF QEFTDGSFTQ PLYRGELNEH LGLLGPYIRA EVEDNIMVTF RNQASRPYSF YSSLISYEED QRQGAEPRKN FVKPNETKTY FWKVQHHMAP TKDEFDCKAW AYFSDVDLEK DVHSGLIGPL LVCHTNTLNP AHGRQVTVQE FALFFTIFDE TKSWYFTENM ERNCRAPCNI QMEDPTFKEN YRFHAINGYI MDTLPGLVMA QDQRIRWYLL SMGSNENIHS IHFSGHVFTV RKKEEYKMAL YNLYPGVFET VEMLPSKAGI WRVECLIGEH LHAGMSTLFL VYSNKCQTPL GMASGHIRDF QITASGQYGQ WAPKLARLHY SGSINAWSTK EPFSWIKVDL LAPMIIHGIK TQGARQKFSS LYISQFIIMY SLDGKKWQTY RGNSTGTLMV FFGNVDSSGI KHNIFNPPII ARYIRLHPTH YSIRSTLRME LMGCDLNSCS MPLGMESKAI SDAQITASSY FTNMFATWSP SKARLHLQGR SNAWRPQVNN PKEWLQVDFQ KTMKVTGVTT QGVKSLLTSM YVKEFLISSS QDGHQWTLFF QNGKVKVFQG NQDSFTPVVN SLDPPLLTRY LRIHPQSWVH QIALRMEVLG CEAQDLY
4	**rhScFVIII-BDD 2**	MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRRYYLGAVE LSWDYMQSDL GELPVDARFP PRVPKSFPFN TSVVYKKTLF VEFTDHLFNI AKPRPPWMGL LGPTIQAEVY DTVVITLKNM ASHPVSLHAV GVSYWKASEG AEYDDQTSQR EKEDDKVFPG GSHTYVWQVL KENGPMASDP LCLTYSYLSH VDLVKDLNSG LIGALLVCRE GSLAKEKTQT LHKFILLFAV FDEGKSWHSE TKNSLMQDRD AASARAWPKM HTVNGYVNRS LPGLIGCHRK SVYWHVIGMG TTPEVHSIFL EGHTFLVRNH RQASLEISPI TFLTAQTLLM DLGQFLLFCH ISSHQHDGME AYVKVDSCPE EPQLRMKNNE EAEDYDDDLT DSEMDVVRFD DDNSPSFIQI RSVAKKHPKT WVHYIAAEEE DWDYAPLVLA PDDRSYKSQY LNNGPQRIGR KYKKVRFMAY TDETFKTREA IQHESGILGP LLYGEVGDTL LIIFKNQASR PYNIYPHGIT DVRPLYSRRL PKGVKHLKDF PILPGEIFKY KWTVTVEDGP TKSDPRCLTR YYSSFVNMER DLASGLIGPL LICYKESVDQ RGNQIMSDKR NVILFSVFDE NRSWYLTENI QRFLPNPAGV QLEDPEFQAS NIMHSINGYV FDSLQLSVCL HEVAYWYILS IGAQTDFLSV FFSGYTFKHK MVYEDTLTLF PFSGETVFMS MENPGLWILG CHNSDFRNRG MTALLKVSSC DKNTGDYYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FSQNPPVLKA HQAEITRTTL QSDQEEIDYD DTISVEMKKE DFDIYDEDEN QSPRSFQKKT RHYFIAAVER LWDYGMSSSP HVLRNRAQSG SVPQFKKVVF QEFTDGSFTQ PLYRGELNEH LGLLGPYIRA EVEDNIMVTF RNQASRPYSF YSSLISYEED QRQGAEPRKN FVKPNETKTY FWKVQHHMAP TKDEFDCKAW AYFSDVDLEK DVHSGLIGPL LVCHTNTLNP AHGRQVTVQE FALFFTIFDE TKSWYFTENM ERNCRAPCNI QMEDPTFKEN YRFHAINGYI MDTLPGLVMA QDQRIRWYLL SMGSNENIHS IHFSGHVFTV RKKEEYKMAL YNLYPGVFET VEMLPSKAGI WRVECLIGEH LHAGMSTLFL VYSNKCQTPL GMASGHIRDF QITASGQYGQ WAPKLARLHY SGSINAWSTK EPFSWIKVDL LAPMIIHGIK TQGARQKFSS LYISQFIIMY SLDGKKWQTY RGNSTGTLMV FFGNVDSSGI KHNIFNPPII ARYIRLHPTH YSIRSTLRME LMGCDLNSCS MPLGMESKAI SDAQITASSY FTNMFATWSP SKARLHLQGR SNAWRPQVNN PKEWLQVDFQ KTMKVTGVTT QGVKSLLTSM YVKEFLISSS QDGHQWTLFF QNGKVKVFQG NQDSFTPVVN SLDPPLLTRY LRIHPQSWVH QIALRMEVLG CEAQDLY
5	**rhScFVIII-BDD 3 (ΔF)**	MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRRYYLGAVE LSWDYMQSDL GELPVDARFP PRVPKSFPFN TSVVYKKTLF VEFTDHLFNI AKPRPPWMGL LGPTIQAEVY DTVVITLKNM ASHPVSLHAV GVSYWKASEG AEYDDQTSQR EKEDDKVFPG GSHTYVWQVL KENGPMASDP LCLTYSYLSH VDLVKDLNSG LIGALLVCRE

		GSLAKEKTQT LHKFILLFAV FDEGKSWHSE TKNSLMQDRD AASARAWPKM HTVNGYVNRS LPGLIGCHRK SVYWHVIGMG TTPEVHSIFL EGHTFLVRNH RQASLEISPI TFLTAQTLLM DLGQFLLFCH ISSHQHDGME AYVKVDSCPE EPQLRMKNNE EAEDYDDDLT DSEMDVVRFD DDNSPSFIQI RSVAKKHPKT WVHYIAAEEE DWDYAPLVLA PDDRSYKSQY LNNGPQRIGR KYKKVRFMAY TDETFKTREA IQHESGILGP LLYGEVGDTL LIIFKNQASR PYNIYPHGIT DVRPLYSRRL PKGVKHLKDF PILPGEIFKY KWTVTVEDGP TKSDPRCLTR YYSSFVNMER DLASGLIGPL LICYKESVDQ RGNQIMSDKR NVILFSVFDE NRSWYLTENI QRFLPNPAGV QLEDPEFQAS NIMHSINGYV FDSLQLSVCL HEVAYWYILS IGAQTDFLSV FFSGYTFKHK MVYEDTLTLF PFSGETVFMS MENPGLWILG CHNSDFRNRG MTALLKVSSC DKNTGDYYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FSQNPPVLKE ITRTTLQSDQ EEIDYDDTIS VEMKKEDFDI YDEDENQSPR SFQKKTRHYF IAAVERLWDY GMSSSPHVLR NRAQSGSVPQ FKKVVFQEFT DGSFTQPLYR GELNEHLGLL GPYIRAEVED NIMVTFRNQA SRPYSFYSSL ISYEEDQRQG AEPRKNFVKP NETKTYFWKV QHHMAPTKDE FDCKAWAYFS DVDLEKDVHS GLIGPLLVCH TNTLNPAHGR QVTVQEFALF FTIFDETKSW YFTENMERNC RAPCNIQMED PTFKENYRFH AINGYIMDTL PGLVMAQDQR IRWYLLSMGS NENIHSIHFS GHVFTVRKKE EYKMALYNLY PGVFETVEML PSKAGIWRVE CLIGEHLHAG MSTLFLVYSN KCQTPLGMAS GHIRDFQITA SGQYGQWAPK LARLHYSGSI NAWSTKEPFS WIKVDLLAPM IIHGIKTQGA RQKFSSLYIS QFIIMYSLDG KKWQTYRGNS TGTLMVFFGN VDSSGIKHNI FNPPIIARYI RLHPTHYSIR STLRMELMGC DLNSCSMPLG MESKAISDAQ ITASSYFTNM FATWSPSKAR LHLQGRSNAW RPQVNNPKEW LQVDFQKTMK VTGVTTQGVK SLLTSMYVKE FLISSSQDGH QWTLFFQNGK VKVFQGNQDS FTPVVNSLDP PLLTRYLRIH PQSWVHQIAL RMEVLGCEAQ DLY
6	**rhScFVIII-BDD 4**	MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRRYYLGAVE LSWDYMQSDL GELPVDARFP PRVPKSFPFN TSVVYKKTLF VEFTDHLFNI AKPRPPWMGL LGPTIQAEVY DTVVITLKNM ASHPVSLHAV GVSYWKASEG AEYDDQTSQR EKEDDKVFPG GSHTYVWQVL KENGPMASDP LCLTYSYLSH VDLVKDLNSG LIGALLVCRE GSLAKEKTQT LHKFILLFAV FDEGKSWHSE TKNSLMQDRD AASARAWPKM HTVNGYVNRS LPGLIGCHRK SVYWHVIGMG TTPEVHSIFL EGHTFLVRNH RQASLEISPI TFLTAQTLLM DLGQFLLFCH ISSHQHDGME AYVKVDSCPE EPQLRMKNNE EAEDYDDDLT DSEMDVVRFD DDNSPSFIQI RSVAKKHPKT WVHYIAAEEE DWDYAPLVLA PDDRSYKSQY LNNGPQRIGR KYKKVRFMAY TDETFKTREA IQHESGILGP LLYGEVGDTL LIIFKNQASR PYNIYPHGIT DVRPLYSRRL PKGVKHLKDF PILPGEIFKY KWTVTVEDGP TKSDPRCLTR YYSSFVNMER DLASGLIGPL LICYKESVDQ RGNQIMSDKR NVILFSVFDE NRSWYLTENI QRFLPNPAGV QLEDPEFQAS NIMHSINGYV FDSLQLSVCL HEVAYWYILS IGAQTDFLSV FFSGYTFKHK MVYEDTLTLF PFSGETVFMS MENPGLWILG CHNSDFRNRG MTALLKVSSC DKNTGDYYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FSQNPPVLKR EITRTTLQSD QEEIDYDDTI SVEMKKEDFD IYDEDENQSP RSFQKKTRHY FIAAVERLWD YGMSSSPHVL RNRAQSGSVP QFKKVVFQEF TDGSFTQPLY RGELNEHLGL LGPYIRAEVE DNIMVTFRNQ ASRPYSFYSS LISYEEDQRQ GAEPRKNFVK PNETKTYFWK VQHHMAPTKD EFDCKAWAYF SDVDLEKDVH SGLIGPLLVC HTNTLNPAHG RQVTVQEFAL FFTIFDETKS WYFTENMERN CRAPCNIQME DPTFKENYRF HAINGYIMDT LPGLVMAQDQ RIRWYLLSMG SNENIHSIHF SGHVFTVRKK EEYKMALYNL YPGVFETVEM LPSKAGIWRV ECLIGEHLHA GMSTLFLVYS NKCQTPLGMA SGHIRDFQIT ASGQYGQWAP KLARLHYSGS INAWSTKEPF SWIKVDLLAP

		MIIHGIKTQG ARQKFSSLYI SQFIIMYSLD GKKWQTYRGN STGTLMVFFG NVDSSGIKHN IFNPPIIARY IRLHPTHYSI RSTLRMELMG CDLNSCSMPL GMESKAISDA QITASSYFTN MFATWSPSKA RLHLQGRSNA WRPQVNNPKE WLQVDFQKTM KVTGVTTQGV KSLLTSMYVK EFLISSSQDG HQWTLFFQNG KVKVFQGNQD SFTPVVNSLD PPLLTRYLRI HPQSWVHQIA LRMEVLGCEA QDLY
7	rhFVIII-BDD 回加	MQIELSTCFF LCLLRFCFSA TRRYYLGAVE LSWDYMQSDL GELPVDARFP PRVPKSFPFN TSVVYKKTLF VEFTDHLFNI AKPRPPWMGL LGPTIQAEVY DTVVITLKNM ASHPVSLHAV GVSYWKASEG AEYDDQTSQR EKEDDKVFPG GSHTYVWQVL KENGPMASDP LCLTYSYLSH VDLVKDLNSG LIGALLVCRE GSLAKEKTQT LHKFILLFAV FDEGKSWHSE TKNSLMQDRD AASARAWPKM HTVNGYVNRS LPGLIGCHRK SVYWHVIGMG TTPEVHSIFL EGHTFLVRNH RQASLEISPI TFLTAQTLLM DLGQFLLFCH ISSHQHDGME AYVKVDSCPE EPQLRMKNNE EAEDYDDDLT DSEMDVVRFD DDNSPSFIQI RSVAKKHPKT WVHYIAAEEE DWDYAPLVLA PDDRSYKSQY LNNGPQRIGR KYKKVRFMAY TDETFKTREA IQHESGILGP LLYGEVGDTL LIIFKNQASR PYNIYPHGIT DVRPLYSRRL PKGVKHLKDF PILPGEIFKY KWTVTVEDGP TKSDPRCLTR YYSSFVNMER DLASGLIGPL LICYKESVDQ RGNQIMSDKR NVILFSVFDE NRSWYLTENI QRFLPNPAGV QLEDPEFQAS NIMHSINGYV FDSLQLSVCL HEVAYWYILS IGAQTDFLSV FFSGYTFKHK MVYEDTLTLF PFSGETVFMS MENPGLWILG CHNSDFRNRG MTALLKVSSC DKNTGDYYED SYEDISAYLL SKNNAIEPRS FSQNATNVSN NSNTSNDSNV SPPVLKRHQR EITRTTLQSD QEEIDYDDTI SVEMKKEDFD IYDEDENQSP RSFQKKTRHY FIAAVERLWD YGMSSSPHVL RNRAQSGSVP QFKKVVFQEF TDGSFTQPLY RGELNEHLGL LGPYIRAEVE DNIMVTFRNQ ASRPYSFYSS LISYEEDQRQ GAEPRKNFVK PNETKTYFWK VQHHMAPTKD EFDCKAWAYF SDVDLEKDVH SGLIGPLLVC HTNTLNPAHG RQVTVQEFAL FFTIFDETKS WYFTENMERN CRAPCNIQME DPTFKENYRF HAINGYIMDT LPGLVMAQDQ RIRWYLLSMG SNENIHSIHF SGHVFTVRKK EEYKMALYNL YPGVFETVEM LPSKAGIWRV ECLIGEHLHA GMSTLFLVYS NKCQTPLGMA SGHIRDFQIT ASGQYGQWAP KLARLHYSGS INAWSTKEPF SWIKVDLLAP MIIHGIKTQG ARQKFSSLYI SQFIIMYSLD GKKWQTYRGN STGTLMVFFG NVDSSGIKHN IFNPPIIARY IRLHPTHYSI RSTLRMELMG CDLNSCSMPL GMESKAISDA QITASSYFTN MFATWSPSKA RLHLQGRSNA WRPQVNNPKE WLQVDFQKTM KVTGVTTQGV KSLLTSMYVK EFLISSSQDG HQWTLFFQNG KVKVFQGNQD SFTPVVNSLD PPLLTRYLRI HPQSWVHQIA LRMEVLGCEA QDLY

表 5：ARPE-19细胞中表达的FVIII编码序列

SEQ ID NO:	序列名称	核苷酸序列
8	rhFVIII-BDD	ATGCAAATAG AGCTCTCCAC CTGCTTCTTT CTGTGCCTTT TGCGATTCTG 50 CTTTAGTGCC ACCAGAAGAT ACTACCTGGG TGCAGTGGAA CTGTCATGGG 100 ACTATATGCA AAGTGATCTC GGTGAGCTGC CTGTGGACGC AAGATTTCCT 150 CCTAGAGTGC CAAAATCTTT TCCATTCAAC ACCTCAGTCG TGTACAAAAA 200 GACTCTGTTT GTAGAATTCA CGGATCACCT TTTCAACATC GCTAAGCCAA 250 GGCCACCCTG GATGGGTCTG CTAGGTCCTA CCATCCAGGC TGAGGTTTAT 300 GATACAGTGG TCATTACACT TAAGAACATG GCTTCCCATC CTGTCAGTCT 350 TCATGCTGTT GGTGTATCCT ACTGGAAAGC TTCTGAGGGA GCTGAATATG 400 ATGATCAGAC CAGTCAAAGG GAGAAAGAAG ATGATAAAGT CTTCCCTGGT 450 GGAAGCCATA CATATGTCTG GCAGGTCCTG AAAGAGAATG GTCCAATGGC 500

		CTCTGACCCA CTGTGCCTTA CCTACTCATA TCTTTCTCAT GTGGACCTGG 550 TAAAAGACTT GAATTCAGGC CTCATTGGAG CCCTACTAGT ATGTAGAGAA 600 GGGAGTCTGG CCAAGGAAAA GACACAGACC TTGCACAAAT TTATACTACT 650 TTTTGCTGTA TTTGATGAAG GGAAAAGTTG GCACTCAGAA ACAAAGAACT 700 CCTTGATGCA GGATAGGGAT GCTGCATCTG CTCGGGCCTG GCCTAAAATG 750 CACACAGTCA ATGGTTATGT AAACAGGTCT CTGCCAGGTC TGATTGGATG 800 CCACAGGAAA TCAGTCTATT GGCATGTGAT TGGAATGGGC ACCACTCCTG 850 AAGTGCACTC AATATTCCTC GAAGGTCACA CATTTCTTGT GAGGAACCAT 900 CGCCAGGCGT CCTTGGAAAT CTCGCCAATA ACTTTCCTTA CTGCTCAAAC 950 ACTCTTGATG GACCTTGGAC AGTTTCTACT GTTTTGTCAT ATCTCTTCCC 1000 ACCAACATGA TGGCATGGAA GCTTATGTCA AAGTAGACAG CTGTCCAGAG 1050 GAACCCCAAC TACGAATGAA AAATAATGAA GAAGCGGAAG ACTATGATGA 1100 TGATCTTACT GATTCTGAAA TGGATGTGGT CAGGTTTGAT GATGACAACT 1150 CTCCTTCCTT TATCCAAATT CGCTCAGTTG CCAAGAAGCA TCCTAAAACT 1200 TGGGTACATT ACATTGCTGC TGAAGAGGAG GACTGGGACT ATGCTCCCTT 1250 AGTCCTCGCC CCCGATGACA GAAGTTATAA AAGTCAATAT TTGAACAATG 1300 GCCCTCAGCG GATTGGTAGG AAGTACAAAA AAGTCCGATT TATGGCATAC 1350 ACAGATGAAA CCTTTAAGAC TCGTGAAGCT ATTCAGCATG AATCAGGAAT 1400 CTTGGGACCT TTACTTTATG GGGAAGTTGG AGACACACTG TTGATTATAT 1450 TTAAGAATCA AGCAAGCAGA CCATATAACA TCTACCCTCA CGGAATCACT 1500 GATGTCCGTC CTTTGTATTC AAGGAGATTA CCAAAAGGTG TAAAACATTT 1550 GAAGGATTTT CCAATTCTGC CAGGAGAAAT ATTCAAATAT AAATGGACAG 1600 TGACTGTAGA AGATGGGCCA ACTAAATCAG ATCCTCGGTG CCTGACCCGC 1650 TATTACTCTA GTTTCGTTAA TATGGAGAGA GATCTAGCTT CAGGACTCAT 1700 TGGCCCTCTC CTCATCTGCT ACAAAGAATC TGTAGATCAA AGAGGAAACC 1750 AGATAATGTC AGACAAGAGG AATGTCATCC TGTTTTCTGT ATTTGATGAG 1800 AACCGAAGCT GGTACCTCAC AGAGAATATA CAACGCTTTC TCCCCAATCC 1850 AGCTGGAGTG CAGCTTGAGG ATCCAGAGTT CCAAGCCTCC AACATCATGC 1900 ACAGCATCAA TGGCTATGTT TTTGATAGTT TGCAGTTGTC AGTTTGTTTG 1950 CATGAGGTGG CATACTGGTA CATTCTAAGC ATTGGAGCAC AGACTGACTT 2000 CCTTTCTGTC TTCTTCTCTG GATATACCTT CAAACACAAA ATGGTCTATG 2050 AAGACACACT CACCCTATTC CCATTCTCAG GAGAAACTGT CTTCATGTCG 2100 ATGGAAAACC CAGGTCTATG GATTCTGGGG TGCCACAACT CAGACTTTCG 2150 GAACAGAGGC ATGACCGCCT TACTGAAGGT TTCTAGTTGT GACAAGAACA 2200 CTGGTGATTA TTACGAGGAC AGTTATGAAG ATATTTCAGC ATACTTGCTG 2250 AGTAAAAACA ATGCCATTGA ACCAAGAAGC TTCTCCCAAA ACCCACCAGT 2300 CTTGAAACGC CATCAACGGG AAATAACTCG TACTACTCTT CAGTCAGATC 2350 AAGAGGAAAT TGACTATGAT GATACCATAT CAGTTGAAAT GAAGAAGGAA 2400 GATTTTGACA TTTATGATGA GGATGAAAAT CAGAGCCCCC GCAGCTTTCA 2450 AAAGAAAACA CGACACTATT TTATTGCTGC AGTGGAGAGG CTCTGGGATT 2500 ATGGGATGAG TAGCTCCCCA CATGTTCTAA GAAACAGGGC TCAGAGTGGC 2550 AGTGTCCCTC AGTTCAAGAA AGTTGTTTTC CAGGAATTTA CTGATGGCTC 2600 CTTTACTCAG CCCTTATACC GTGGAGAACT AAATGAACAT TTGGGACTCC 2650 TGGGGCCATA TATAAGAGCA GAAGTTGAAG ATAATATCAT GGTAACTTTC 2700 AGAAATCAGG CCTCTCGTCC CTATTCCTTC TATTCTAGCC TTATTTCTTA 2750 TGAGGAAGAT CAGAGGCAAG GAGCAGAACC TAGAAAAAAC TTTGTCAAGC 2800 CTAATGAAAC CAAAACTTAC TTTTGGAAAG TGCAACATCA TATGGCACCC 2850 ACTAAAGATG AGTTTGACTG CAAAGCCTGG GCTTATTTCT CTGATGTTGA 2900 CCTGGAAAAA GATGTGCACT CAGGCCTGAT TGGACCCCTT CTGGTCTGCC 2950 ACACTAACAC ACTGAACCCT GCTCATGGGA GACAAGTGAC AGTACAGGAA 3000 TTTGCTCTGT TTTTCACCAT CTTTGATGAG ACCAAAAGCT GGTACTTCAC 3050 TGAAAATATG GAAAGAAACT GCAGGGCTCC CTGCAATATC CAGATGGAAG 3100 ATCCCACTTT TAAAGAGAAT TATCGCTTCC ATGCAATCAA TGGCTACATA 3150 ATGGATACAC TACCTGGCTT AGTAATGGCT CAGGATCAAA GGATTCGATG 3200 GTATCTGCTC AGCATGGGCA GCAATGAAAA CATCCATTCT ATTCATTTCA 3250

		GTGGACATGT GTTCACTGTA CGAAAAAAAG AGGAGTATAA AATGGCACTG	3300
		TACAATCTCT ATCCAGGTGT TTTTGAGACA GTGGAAATGT TACCATCCAA	3350
		AGCTGGAATT TGGCGGGTGG AATGCCTTAT TGGCGAGCAT CTACATGCTG	3400
		GGATGAGCAC ACTTTTTCTG GTGTACAGCA ATAAGTGTCA GACTCCCCTG	3450
		GGAATGGCTT CTGGACACAT TAGAGATTTT CAGATTACAG CTTCAGGACA	3500
		ATATGGACAG TGGGCCCCAA AGCTGGCCAG ACTTCATTAT TCCGGATCAA	3550
		TCAATGCCTG GAGCACCAAG GAGCCCTTTT CTTGGATCAA GGTGGATCTG	3600
		TTGGCACCAA TGATTATTCA CGGCATCAAG ACCCAGGGTG CCCGTCAGAA	3650
		GTTCTCCAGC CTCTACATCT CTCAGTTTAT CATCATGTAT AGTCTTGATG	3700
		GGAAGAAGTG GCAGACTTAT CGAGGAAATT CCACTGGAAC CTTAATGGTC	3750
		TTCTTTGGCA ATGTGGATTC ATCTGGGATA AAACACAATA TTTTTAACCC	3800
		TCCAATTATT GCTCGATACA TCCGTTTGCA CCCAACTCAT TATAGCATTC	3850
		GCAGCACTCT TCGCATGGAG TTGATGGGCT GTGATTTAAA TAGTTGCAGC	3900
		ATGCCATTGG GAATGGAGAG TAAAGCAATA TCAGATGCAC AGATTACTGC	3950
		TTCATCCTAC TTTACCAATA TGTTTGCCAC CTGGTCTCCT TCAAAAGCTC	4000
		GACTTCACCT CCAAGGGAGG AGTAATGCCT GGAGACCTCA GGTGAATAAT	4050
		CCAAAAGAGT GGCTGCAAGT GGACTTCCAG AAGACAATGA AAGTCACAGG	4100
		AGTAACTACT CAGGGAGTAA AATCTCTGCT TACCAGCATG TATGTGAAGG	4150
		AGTTCCTCAT CTCCAGCAGT CAAGATGGCC ATCAGTGGAC TCTCTTTTTT	4200
		CAGAATGGCA AAGTAAAGGT TTTTCAGGGA AATCAAGACT CCTTCACACC	4250
		TGTGGTGAAC TCTCTAGACC CACCGTTACT GACTCGCTAC CTTCGAATTC	4300
		ACCCCCAGAG TTGGGTGCAC CAGATTGCCC TGAGGATGGA GGTTCTGGGC	4350
		TGCGAGGCAC AGGACCTCTA CTGA	4374
9	rhFVIII-BDD Sc1	ATGCAAATAG AGCTCTCCAC CTGCTTCTTT CTGTGCCTTT TGCGATTCTG	
		CTTTAGTGCC ACCAGAAGAT ACTACCTGGG TGCAGTGGAA CTGTCATGGG	
		ACTATATGCA AAGTGATCTC GGTGAGCTGC CTGTGGACGC AAGATTTCCT	
		CCTAGAGTGC CAAAATCTTT TCCATTCAAC ACCTCAGTCG TGTACAAAAA	
		GACTCTGTTT GTAGAATTCA CGGATCACCT TTTCAACATC GCTAAGCCAA	
		GGCCACCCTG GATGGGTCTG CTAGGTCCTA CCATCCAGGC TGAGGTTTAT	
		GATACAGTGG TCATTACACT TAAGAACATG GCTTCCCATC CTGTCAGTCT	
		TCATGCTGTT GGTGTATCCT ACTGGAAAGC TTCTGAGGGA GCTGAATATG	
		ATGATCAGAC CAGTCAAAGG GAGAAAGAAG ATGATAAAGT CTTCCCTGGT	
		GGAAGCCATA CATATGTCTG GCAGGTCCTG AAAGAGAATG GTCCAATGGC	
		CTCTGACCCA CTGTGCCTTA CCTACTCATA TCTTTCTCAT GTGGACCTGG	
		TAAAAGACTT GAATTCAGGC CTCATTGGAG CCCTACTAGT ATGTAGAGAA	
		GGGAGTCTGG CCAAGGAAAA GACACAGACC TTGCACAAAT TTATACTACT	
		TTTTGCTGTA TTTGATGAAG GGAAAAGTTG GCACTCAGAA ACAAAGAACT	
		CCTTGATGCA GGATAGGGAT GCTGCATCTG CTCGGGCCTG GCCTAAAATG	
		CACACAGTCA ATGGTTATGT AAACAGGTCT CTGCCAGGTC TGATTGGATG	
		CCACAGGAAA TCAGTCTATT GGCATGTGAT TGGAATGGGC ACCACTCCTG	
		AAGTGCACTC AATATTCCTC GAAGGTCACA CATTTCTTGT GAGGAACCAT	
		CGCCAGGCGT CCTTGGAAAT CTCGCCAATA ACTTTCCTTA CTGCTCAAAC	
		ACTCTTGATG GACCTTGGAC AGTTTCTACT GTTTTGTCAT ATCTCTTCCC	
		ACCAACATGA TGGCATGGAA GCTTATGTCA AAGTAGACAG CTGTCCAGAG	
		GAACCCCAAC TACGAATGAA AAATAATGAA GAAGCGGAAG ACTATGATGA	
		TGATCTTACT GATTCTGAAA TGGATGTGGT CAGGTTTGAT GATGACAACT	
		CTCCTTCCTT TATCCAAATT CGCTCAGTTG CCAAGAAGCA TCCTAAAACT	
		TGGGTACATT ACATTGCTGC TGAAGAGGAG GACTGGGACT ATGCTCCCTT	
		AGTCCTCGCC CCCGATGACA GAAGTTATAA AAGTCAATAT TTGAACAATG	
		GCCCTCAGCG GATTGGTAGG AAGTACAAAA AAGTCCGATT TATGGCATAC	
		ACAGATGAAA CCTTTAAGAC TCGTGAAGCT ATTCAGCATG AATCAGGAAT	
		CTTGGGACCT TTACTTTATG GGGAAGTTGG AGACACACTG TTGATTATAT	
		TTAAGAATCA AGCAAGCAGA CCATATAACA TCTACCCTCA CGGAATCACT	
		GATGTCCGTC CTTTGTATTC AAGGAGATTA CCAAAAGGTG TAAAACATTT	
		GAAGGATTTT CCAATTCTGC CAGGAGAAAT ATTCAAATAT AAATGGACAG	

		TGACTGTAGA AGATGGGCCA ACTAAATCAG ATCCTCGGTG CCTGACCCGC TATTACTCTA GTTTCGTTAA TATGGAGAGA GATCTAGCTT CAGGACTCAT TGGCCCTCTC CTCATCTGCT ACAAAGAATC TGTAGATCAA AGAGGAAACC AGATAATGTC AGACAAGAGG AATGTCATCC TGTTTTCTGT ATTTGATGAG AACCGAAGCT GGTACCTCAC AGAGAATATA CAACGCTTTC TCCCCAATCC AGCTGGAGTG CAGCTTGAGG ATCCAGAGTT CCAAGCCTCC AACATCATGC ACAGCATCAA TGGCTATGTT TTTGATAGTT TGCAGTTGTC AGTTTGTTTG CATGAGGTGG CATACTGGTA CATTCTAAGC ATTGGAGCAC AGACTGACTT CCTTTCTGTC TTCTTCTCTG GATATACCTT CAAACACAAA ATGGTCTATG AAGACACACT CACCCTATTC CCATTCTCAG GAGAAACTGT CTTCATGTCG ATGGAAAACC CAGGTCTATG GATTCTGGGG TGCCACAACT CAGACTTTCG GAACAGAGGC ATGACCGCCT TACTGAAGGT TTCTAGTTGT GACAAGAACA CTGGTGATTA TTACGAGGAC AGTTATGAAG ATATTTCAGC ATACTTGCTG AGTAAAAACA ATGCCATTGA ACCAAGAAGC TTCTCCCAAA ACCCACCAGT CTTGAAACAC CATCAACGGG AAATAACTCG TACTACTCTT CAGTCAGATC AAGAGGAAAT TGACTATGAT GATACCATAT CAGTTGAAAT GAAGAAGGAA GATTTTGACA TTTATGATGA GGATGAAAAT CAGAGCCCCC GCAGCTTTCA AAAGAAAACA CGACACTATT TTATTGCTGC AGTGGAGAGG CTCTGGGATT ATGGGATGAG TAGCTCCCCA CATGTTCTAA GAAACAGGGC TCAGAGTGGC AGTGTCCCTC AGTTCAAGAA AGTTGTTTTC CAGGAATTTA CTGATGGCTC CTTTACTCAG CCCTTATACC GTGGAGAACT AAATGAACAT TTGGGACTCC TGGGGCCATA TATAAGAGCA GAAGTTGAAG ATAATATCAT GGTAACTTTC AGAAATCAGG CCTCTCGTCC CTATTCCTTC TATTCTAGCC TTATTTCTTA TGAGGAAGAT CAGAGGCAAG GAGCAGAACC TAGAAAAAAC TTTGTCAAGC CTAATGAAAC CAAAACTTAC TTTTGGAAAG TGCAACATCA TATGGCACCC ACTAAAGATG AGTTTGACTG CAAAGCCTGG GCTTATTTCT CTGATGTTGA CCTGGAAAAA GATGTGCACT CAGGCCTGAT TGGACCCCTT CTGGTCTGCC ACACTAACAC ACTGAACCCT GCTCATGGGA GACAAGTGAC AGTACAGGAA TTTGCTCTGT TTTTCACCAT CTTTGATGAG ACCAAAAGCT GGTACTTCAC TGAAAATATG GAAAGAAACT GCAGGGCTCC CTGCAATATC CAGATGGAAG ATCCCACTTT TAAAGAGAAT TATCGCTTCC ATGCAATCAA TGGCTACATA ATGGATACAC TACCTGGCTT AGTAATGGCT CAGGATCAAA GGATTCGATG GTATCTGCTC AGCATGGGCA GCAATGAAAA CATCCATTCT ATTCATTTCA GTGGACATGT GTTCACTGTA CGAAAAAAAG AGGAGTATAA AATGGCACTG TACAATCTCT ATCCAGGTGT TTTTGAGACA GTGGAAATGT TACCATCCAA AGCTGGAATT TGGCGGGTGG AATGCCTTAT TGGCGAGCAT CTACATGCTG GGATGAGCAC ACTTTTTCTG GTGTACAGCA ATAAGTGTCA GACTCCCCTG GGAATGGCTT CTGGACACAT TAGAGATTTT CAGATTACAG CTTCAGGACA ATATGGACAG TGGGCCCCAA AGCTGGCCAG ACTTCATTAT TCCGGATCAA TCAATGCCTG GAGCACCAAG GAGCCCTTTT CTTGGATCAA GGTGGATCTG TTGGCACCAA TGATTATTCA CGGCATCAAG ACCCAGGGTG CCCGTCAGAA GTTCTCCAGC CTCTACATCT CTCAGTTTAT CATCATGTAT AGTCTTGATG GGAAGAAGTG GCAGACTTAT CGAGGAAATT CCACTGGAAC CTTAATGGTC TTCTTTGGCA ATGTGGATTC ATCTGGGATA AAACACAATA TTTTTAACCC TCCAATTATT GCTCGATACA TCCGTTTGCA CCCAACTCAT TATAGCATTC GCAGCACTCT TCGCATGGAG TTGATGGGCT GTGATTTAAA TAGTTGCAGC ATGCCATTGG GAATGGAGAG TAAAGCAATA TCAGATGCAC AGATTACTGC TTCATCCTAC TTTACCAATA TGTTTGCCAC CTGGTCTCCT TCAAAAGCTC GACTTCACCT CCAAGGGAGG AGTAATGCCT GGAGACCTCA GGTGAATAAT CCAAAAGAGT GGCTGCAAGT GGACTTCCAG AAGACAATGA AAGTCACAGG AGTAACTACT CAGGGAGTAA AATCTCTGCT TACCAGCATG TATGTGAAGG AGTTCCTCAT CTCCAGCAGT CAAGATGGCC ATCAGTGGAC TCTCTTTTTT CAGAATGGCA AAGTAAAGGT TTTTCAGGGA AATCAAGACT CCTTCACACC TGTGGTGAAC TCTCTAGACC CACCGTTACT GACTCGCTAC CTTCGAATTC

		ACCCCCAGAG TTGGGTGCAC CAGATTGCCC TGAGGATGGA GGTTCTGGGC TGCGAGGCAC AGGACCTCTA CTGA
10	rhFVIII-BDD Sc2	ATGCAAATAG AGCTCTCCAC CTGCTTCTTT CTGTGCCTTT TGCGATTCTG 50 CTTTAGTGCC ACCAGAAGAT ACTACCTGGG TGCAGTGGAA CTGTCATGGG 100 ACTATATGCA AAGTGATCTC GGTGAGCTGC CTGTGGACGC AAGATTTCCT 150 CCTAGAGTGC CAAAATCTTT TCCATTCAAC ACCTCAGTCG TGTACAAAAA 200 GACTCTGTTT GTAGAATTCA CGGATCACCT TTTCAACATC GCTAAGCCAA 250 GGCCACCCTG GATGGGTCTG CTAGGTCCTA CCATCCAGGC TGAGGTTTAT 300 GATACAGTGG TCATTACACT TAAGAACATG GCTTCCCATC CTGTCAGTCT 350 TCATGCTGTT GGTGTATCCT ACTGGAAAGC TTCTGAGGGA GCTGAATATG 400 ATGATCAGAC CAGTCAAAGG GAGAAAGAAG ATGATAAAGT CTTCCCTGGT 450 GGAAGCCATA CATATGTCTG GCAGGTCCTG AAAGAGAATG GTCCAATGGC 500 CTCTGACCCA CTGTGCCTTA CCTACTCATA TCTTTCTCAT GTGGACCTGG 550 TAAAAGACTT GAATTCAGGC CTCATTGGAG CCCTACTAGT ATGTAGAGAA 600 GGGAGTCTGG CCAAGGAAAA GACACAGACC TTGCACAAAT TTATACTACT 650 TTTTGCTGTA TTTGATGAAG GGAAAAGTTG GCACTCAGAA ACAAAGAACT 700 CCTTGATGCA GGATAGGGAT GCTGCATCTG CTCGGGCCTG GCCTAAAATG 750 CACACAGTCA ATGGTTATGT AAACAGGTCT CTGCCAGGTC TGATTGGATG 800 CCACAGGAAA TCAGTCTATT GGCATGTGAT TGGAATGGGC ACCACTCCTG 850 AAGTGCACTC AATATTCCTC GAAGGTCACA CATTTCTTGT GAGGAACCAT 900 CGCCAGGCGT CCTTGGAAAT CTCGCCAATA ACTTTCCTTA CTGCTCAAAC 950 ACTCTTGATG GACCTTGGAC AGTTTCTACT GTTTTGTCAT ATCTCTTCCC 1000 ACCAACATGA TGGCATGGAA GCTTATGTCA AAGTAGACAG CTGTCCAGAG 1050 GAACCCCAAC TACGAATGAA AAATAATGAA GAAGCGGAAG ACTATGATGA 1100 TGATCTTACT GATTCTGAAA TGGATGTGGT CAGGTTTGAT GATGACAACT 1150 CTCCTTCCTT TATCCAAATT CGCTCAGTTG CCAAGAAGCA TCCTAAAACT 1200 TGGGTACATT ACATTGCTGC TGAAGAGGAG GACTGGGACT ATGCTCCCTT 1250 AGTCCTCGCC CCCGATGACA GAAGTTATAA AAGTCAATAT TTGAACAATG 1300 GCCCTCAGCG GATTGGTAGG AAGTACAAAA AAGTCCGATT TATGGCATAC 1350 ACAGATGAAA CCTTTAAGAC TCGTGAAGCT ATTCAGCATG AATCAGGAAT 1400 CTTGGGACCT TTACTTTATG GGGAAGTTGG AGACACACTG TTGATTATAT 1450 TTAAGAATCA AGCAAGCAGA CCATATAACA TCTACCCTCA CGGAATCACT 1500 GATGTCCGTC CTTTGTATTC AAGGAGATTA CCAAAAGGTG TAAAACATTT 1550 GAAGGATTTT CCAATTCTGC CAGGAGAAAT ATTCAAATAT AAATGGACAG 1600 TGACTGTAGA AGATGGGCCA ACTAAATCAG ATCCTCGGTG CCTGACCCGC 1650 TATTACTCTA GTTTCGTTAA TATGGAGAGA GATCTAGCTT CAGGACTCAT 1700 TGGCCCTCTC CTCATCTGCT ACAAAGAATC TGTAGATCAA AGAGGAAACC 1750 AGATAATGTC AGACAAGAGG AATGTCATCC TGTTTTCTGT ATTTGATGAG 1800 AACCGAAGCT GGTACCTCAC AGAGAATATA CAACGCTTTC TCCCCAATCC 1850 AGCTGGAGTG CAGCTTGAGG ATCCAGAGTT CCAAGCCTCC AACATCATGC 1900 ACAGCATCAA TGGCTATGTT TTTGATAGTT TGCAGTTGTC AGTTTGTTTG 1950 CATGAGGTGG CATACTGGTA CATTCTAAGC ATTGGAGCAC AGACTGACTT 2000 CCTTTCTGTC TTCTTCTCTG GATATACCTT CAAACACAAA ATGGTCTATG 2050 AAGACACACT CACCCTATTC CCATTCTCAG GAGAAACTGT CTTCATGTCG 2100 ATGGAAAACC CAGGTCTATG GATTCTGGGG TGCCACAACT CAGACTTTCG 2150 GAACAGAGGC ATGACCGCCT TACTGAAGGT TTCTAGTTGT GACAAGAACA 2200 CTGGTGATTA TTACGAGGAC AGTTATGAAG ATATTTCAGC ATACTTGCTG 2250 AGTAAAAACA ATGCCATTGA ACCAAGAAGC TTCTCCCAAA ACCCACCAGT 2300 CTTGAAAGCC CATCAAGCGG AAATAACTCG TACTACTCTT CAGTCAGATC 2350 AAGAGGAAAT TGACTATGAT GATACCATAT CAGTTGAAAT GAAGAAGGAA 2400 GATTTTGACA TTTATGATGA GGATGAAAAT CAGAGCCCCC GCAGCTTTCA 2450 AAAGAAAACA CGACACTATT TTATTGCTGC AGTGGAGAGG CTCTGGGATT 2500 ATGGGATGAG TAGCTCCCCA CATGTTCTAA GAAACAGGGC TCAGAGTGGC 2550 AGTGTCCCTC AGTTCAAGAA AGTTGTTTTC CAGGAATTTA CTGATGGCTC 2600 CTTTACTCAG CCCTTATACC GTGGAGAACT AAATGAACAT TTGGGACTCC 2650

		TGGGGCCATA TATAAGAGCA GAAGTTGAAG ATAATATCAT GGTAACTTTC	2700
		AGAAATCAGG CCTCTCGTCC CTATTCCTTC TATTCTAGCC TTATTTCTTA	2750
		TGAGGAAGAT CAGAGGCAAG GAGCAGAACC TAGAAAAAAC TTTGTCAAGC	2800
		CTAATGAAAC CAAAACTTAC TTTTGGAAAG TGCAACATCA TATGGCACCC	2850
		ACTAAAGATG AGTTTGACTG CAAAGCCTGG GCTTATTTCT CTGATGTTGA	2900
		CCTGGAAAAA GATGTGCACT CAGGCCTGAT TGGACCCCTT CTGGTCTGCC	2950
		ACACTAACAC ACTGAACCCT GCTCATGGGA GACAAGTGAC AGTACAGGAA	3000
		TTTGCTCTGT TTTTCACCAT CTTTGATGAG ACCAAAAGCT GGTACTTCAC	3050
		TGAAAATATG GAAAGAAACT GCAGGGCTCC CTGCAATATC CAGATGGAAG	3100
		ATCCCACTTT TAAAGAGAAT TATCGCTTCC ATGCAATCAA TGGCTACATA	3150
		ATGGATACAC TACCTGGCTT AGTAATGGCT CAGGATCAAA GGATTCGATG	3200
		GTATCTGCTC AGCATGGGCA GCAATGAAAA CATCCATTCT ATTCATTTCA	3250
		GTGGACATGT GTTCACTGTA CGAAAAAAAG AGGAGTATAA AATGGCACTG	3300
		TACAATCTCT ATCCAGGTGT TTTTGAGACA GTGGAAATGT TACCATCCAA	3350
		AGCTGGAATT TGGCGGGTGG AATGCCTTAT TGGCGAGCAT CTACATGCTG	3400
		GGATGAGCAC ACTTTTTCTG GTGTACAGCA ATAAGTGTCA GACTCCCCTG	3450
		GGAATGGCTT CTGGACACAT TAGAGATTTT CAGATTACAG CTTCAGGACA	3500
		ATATGGACAG TGGGCCCCAA AGCTGGCCAG ACTTCATTAT TCCGGATCAA	3550
		TCAATGCCTG GAGCACCAAG GAGCCCTTTT CTTGGATCAA GGTGGATCTG	3600
		TTGGCACCAA TGATTATTCA CGGCATCAAG ACCCAGGGTG CCCGTCAGAA	3650
		GTTCTCCAGC CTCTACATCT CTCAGTTTAT CATCATGTAT AGTCTTGATG	3700
		GGAAGAAGTG GCAGACTTAT CGAGGAAATT CCACTGGAAC CTTAATGGTC	3750
		TTCTTTGGCA ATGTGGATTC ATCTGGGATA AAACACAATA TTTTTAACCC	3800
		TCCAATTATT GCTCGATACA TCCGTTTGCA CCCAACTCAT TATAGCATTC	3850
		GCAGCACTCT TCGCATGGAG TTGATGGGCT GTGATTTAAA TAGTTGCAGC	3900
		ATGCCATTGG GAATGGAGAG TAAAGCAATA TCAGATGCAC AGATTACTGC	3950
		TTCATCCTAC TTTACCAATA TGTTTGCCAC CTGGTCTCCT TCAAAAGCTC	4000
		GACTTCACCT CCAAGGGAGG AGTAATGCCT GGAGACCTCA GGTGAATAAT	4050
		CCAAAAGAGT GGCTGCAAGT GGACTTCCAG AAGACAATGA AAGTCACAGG	4100
		AGTAACTACT CAGGGAGTAA AATCTCTGCT TACCAGCATG TATGTGAAGG	4150
		AGTTCCTCAT CTCCAGCAGT CAAGATGGCC ATCAGTGGAC TCTCTTTTTT	4200
		CAGAATGGCA AAGTAAAGGT TTTTCAGGGA AATCAAGACT CCTTCACACC	4250
		TGTGGTGAAC TCTCTAGACC CACCGTTACT GACTCGCTAC CTTCGAATTC	4300
		ACCCCCAGAG TTGGGTGCAC CAGATTGCCC TGAGGATGGA GGTTCTGGGC	4350
		TGCGAGGCAC AGGACCTCTA CTGA	4374
11	rhFVIII-BDD Sc3	ATGCAAATAG AGCTCTCCAC CTGCTTCTTT CTGTGCCTTT TGCGATTCTG	
		CTTTAGTGCC ACCAGAAGAT ACTACCTGGG TGCAGTGGAA CTGTCATGGG	
		ACTATATGCA AAGTGATCTC GGTGAGCTGC CTGTGGACGC AAGATTTCCT	
		CCTAGAGTGC CAAAATCTTT TCCATTCAAC ACCTCAGTCG TGTACAAAAA	
		GACTCTGTTT GTAGAATTCA CGGATCACCT TTTCAACATC GCTAAGCCAA	
		GGCCACCCTG GATGGGTCTG CTAGGTCCTA CCATCCAGGC TGAGGTTTAT	
		GATACAGTGG TCATTACACT TAAGAACATG GCTTCCCATC CTGTCAGTCT	
		TCATGCTGTT GGTGTATCCT ACTGGAAAGC TTCTGAGGGA GCTGAATATG	
		ATGATCAGAC CAGTCAAAGG GAGAAAGAAG ATGATAAAGT CTTCCCTGGT	
		GGAAGCCATA CATATGTCTG GCAGGTCCTG AAAGAGAATG GTCCAATGGC	
		CTCTGACCCA CTGTGCCTTA CCTACTCATA TCTTTCTCAT GTGGACCTGG	
		TAAAAGACTT GAATTCAGGC CTCATTGGAG CCCTACTAGT ATGTAGAGAA	
		GGGAGTCTGG CCAAGGAAAA GACACAGACC TTGCACAAAT TTATACTACT	
		TTTTGCTGTA TTTGATGAAG GGAAAAGTTG GCACTCAGAA ACAAAGAACT	
		CCTTGATGCA GGATAGGGAT GCTGCATCTG CTCGGGCCTG GCCTAAAATG	
		CACACAGTCA ATGGTTATGT AAACAGGTCT CTGCCAGGTC TGATTGGATG	
		CCACAGGAAA TCAGTCTATT GGCATGTGAT TGGAATGGGC ACCACTCCTG	
		AAGTGCACTC AATATTCCTC GAAGGTCACA CATTTCTTGT GAGGAACCAT	
		CGCCAGGCGT CCTTGGAAAT CTCGCCAATA ACTTTCCTTA CTGCTCAAAC	
		ACTCTTGATG GACCTTGGAC AGTTTCTACT GTTTTGTCAT ATCTCTTCCC	

		ACCAACATGA TGGCATGGAA GCTTATGTCA AAGTAGACAG CTGTCCAGAG GAACCCCAAC TACGAATGAA AAATAATGAA GAAGCGGAAG ACTATGATGA TGATCTTACT GATTCTGAAA TGGATGTGGT CAGGTTTGAT GATGACAACT CTCCTTCCTT TATCCAAATT CGCTCAGTTG CCAAGAAGCA TCCTAAAACT TGGGTACATT ACATTGCTGC TGAAGAGGAG GACTGGGACT ATGCTCCCTT AGTCCTCGCC CCCGATGACA GAAGTTATAA AAGTCAATAT TTGAACAATG GCCCTCAGCG GATTGGTAGG AAGTACAAAA AAGTCCGATT TATGGCATAC ACAGATGAAA CCTTTAAGAC TCGTGAAGCT ATTCAGCATG AATCAGGAAT CTTGGGACCT TTACTTTATG GGGAAGTTGG AGACACACTG TTGATTATAT TTAAGAATCA AGCAAGCAGA CCATATAACA TCTACCCTCA CGGAATCACT GATGTCCGTC CTTTGTATTC AAGGAGATTA CCAAAAGGTG TAAAACATTT GAAGGATTTT CCAATTCTGC CAGGAGAAAT ATTCAAATAT AAATGGACAG TGACTGTAGA AGATGGGCCA ACTAAATCAG ATCCTCGGTG CCTGACCCGC TATTACTCTA GTTTCGTTAA TATGGAGAGA GATCTAGCTT CAGGACTCAT TGGCCCTCTC CTCATCTGCT ACAAAGAATC TGTAGATCAA AGAGGAAACC AGATAATGTC AGACAAGAGG AATGTCATCC TGTTTTCTGT ATTTGATGAG AACCGAAGCT GGTACCTCAC AGAGAATATA CAACGCTTTC TCCCCAATCC AGCTGGAGTG CAGCTTGAGG ATCCAGAGTT CCAAGCCTCC AACATCATGC ACAGCATCAA TGGCTATGTT TTTGATAGTT TGCAGTTGTC AGTTTGTTTG CATGAGGTGG CATACTGGTA CATTCTAAGC ATTGGAGCAC AGACTGACTT CCTTTCTGTC TTCTTCTCTG GATATACCTT CAAACACAAA ATGGTCTATG AAGACACACT CACCCTATTC CCATTCTCAG GAGAAACTGT CTTCATGTCG ATGGAAAACC CAGGTCTATG GATTCTGGGG TGCCACAACT CAGACTTTCG GAACAGAGGC ATGACCGCCT TACTGAAGGT TTCTAGTTGT GACAAGAACA CTGGTGATTA TTACGAGGAC AGTTATGAAG ATATTTCAGC ATACTTGCTG AGTAAAAACA ATGCCATTGA ACCAAGAAGC TTCTCCCAAA ACCCACCAGT CTTGAAAGAA ATAACTCGTA CTACTCTTCA GTCAGATCAA GAGGAAATTG ACTATGATGA TACCATATCA GTTGAAATGA AGAAGGAAGA TTTTGACATT TATGATGAGG ATGAAAATCA GAGCCCCCGC AGCTTTCAAA AGAAAACACG ACACTATTTT ATTGCTGCAG TGGAGAGGCT CTGGGATTAT GGGATGAGTA GCTCCCCACA TGTTCTAAGA AACAGGGCTC AGAGTGGCAG TGTCCCTCAG TTCAAGAAAG TTGTTTTCCA GGAATTTACT GATGGCTCCT TTACTCAGCC CTTATACCGT GGAGAACTAA ATGAACATTT GGGACTCCTG GGGCCATATA TAAGAGCAGA AGTTGAAGAT AATATCATGG TAACTTTCAG AAATCAGGCC TCTCGTCCCT ATTCCTTCTA TTCTAGCCTT ATTTCTTATG AGGAAGATCA GAGGCAAGGA GCAGAACCTA GAAAAAACTT TGTCAAGCCT AATGAAACCA AAACTTACTT TTGGAAAGTG CAACATCATA TGGCACCCAC TAAAGATGAG TTTGACTGCA AAGCCTGGGC TTATTTCTCT GATGTTGACC TGGAAAAAGA TGTGCACTCA GGCCTGATTG GACCCCTTCT GGTCTGCCAC ACTAACACAC TGAACCCTGC TCATGGGAGA CAAGTGACAG TACAGGAATT TGCTCTGTTT TTCACCATCT TTGATGAGAC CAAAAGCTGG TACTTCACTG AAAATATGGA AAGAAACTGC AGGGCTCCCT GCAATATCCA GATGGAAGAT CCCACTTTTA AAGAGAATTA TCGCTTCCAT GCAATCAATG GCTACATAAT GGATACACTA CCTGGCTTAG TAATGGCTCA GGATCAAAGG ATTCGATGGT ATCTGCTCAG CATGGGCAGC AATGAAAACA TCCATTCTAT TCATTTCAGT GGACATGTGT TCACTGTACG AAAAAAAGAG GAGTATAAAA TGGCACTGTA CAATCTCTAT CCAGGTGTTT TTGAGACAGT GGAAATGTTA CCATCCAAAG CTGGAATTTG GCGGGTGGAA TGCCTTATTG GCGAGCATCT ACATGCTGGG ATGAGCACAC TTTTTCTGGT GTACAGCAAT AAGTGTCAGA CTCCCCTGGG AATGGCTTCT GGACACATTA GAGATTTTCA GATTACAGCT TCAGGACAAT ATGGACAGTG GGCCCCAAAG CTGGCCAGAC TTCATTATTC CGGATCAATC AATGCCTGGA GCACCAAGGA GCCCTTTTCT TGGATCAAGG TGGATCTGTT GGCACCAATG ATTATTCACG GCATCAAGAC CCAGGGTGCC CGTCAGAAGT TCTCCAGCCT CTACATCTCT CAGTTTATCA TCATGTATAG TCTTGATGGG AAGAAGTGGC AGACTTATCG AGGAAATTCC ACTGGAACCT TAATGGTCTT CTTTGGCAAT

		GTGGATTCAT CTGGGATAAA ACACAATATT TTTAACCCTC CAATTATTGC TCGATACATC CGTTTGCACC CAACTCATTA TAGCATTCGC AGCACTCTTC GCATGGAGTT GATGGGCTGT GATTTAAATA GTTGCAGCAT GCCATTGGGA ATGGAGAGTA AAGCAATATC AGATGCACAG ATTACTGCTT CATCCTACTT TACCAATATG TTTGCCACCT GGTCTCCTTC AAAAGCTCGA CTTCACCTCC AAGGGAGGAG TAATGCCTGG AGACCTCAGG TGAATAATCC AAAAGAGTGG CTGCAAGTGG ACTTCCAGAA GACAATGAAA GTCACAGGAG TAACTACTCA GGGAGTAAAA TCTCTGCTTA CCAGCATGTA TGTGAAGGAG TTCCTCATCT CCAGCAGTCA AGATGGCCAT CAGTGGACTC TCTTTTTTCA GAATGGCAAA GTAAAGGTTT TTCAGGGAAA TCAAGACTCC TTCACACCTG TGGTGAACTC TCTAGACCCA CCGTTACTGA CTCGCTACCT TCGAATTCAC CCCCAGAGTT GGGTGCACCA GATTGCCCTG AGGATGGAGG TTCTGGGCTG CGAGGCACAG GACCTCTACT GA
12	rhFVIII-BDD Sc4	ATGCAAATAG AGCTCTCCAC CTGCTTCTTT CTGTGCCTTT TGCGATTCTG CTTTAGTGCC ACCAGAAGAT ACTACCTGGG TGCAGTGGAA CTGTCATGGG ACTATATGCA AAGTGATCTC GGTGAGCTGC CTGTGGACGC AAGATTTCCT CCTAGAGTGC CAAAATCTTT TCCATTCAAC ACCTCAGTCG TGTACAAAAA GACTCTGTTT GTAGAATTCA CGGATCACCT TTTCAACATC GCTAAGCCAA GGCCACCCTG GATGGGTCTG CTAGGTCCTA CCATCCAGGC TGAGGTTTAT GATACAGTGG TCATTACACT TAAGAACATG GCTTCCCATC CTGTCAGTCT TCATGCTGTT GGTGTATCCT ACTGGAAAGC TTCTGAGGGA GCTGAATATG ATGATCAGAC CAGTCAAAGG GAGAAAGAAG ATGATAAAGT CTTCCCTGGT GGAAGCCATA CATATGTCTG GCAGGTCCTG AAAGAGAATG GTCCAATGGC CTCTGACCCA CTGTGCCTTA CCTACTCATA TCTTTCTCAT GTGGACCTGG TAAAAGACTT GAATTCAGGC CTCATTGGAG CCCTACTAGT ATGTAGAGAA GGGAGTCTGG CCAAGGAAAA GACACAGACC TTGCACAAAT TTATACTACT TTTTGCTGTA TTTGATGAAG GGAAAAGTTG GCACTCAGAA ACAAAGAACT CCTTGATGCA GGATAGGGAT GCTGCATCTG CTCGGGCCTG GCCTAAAATG CACACAGTCA ATGGTTATGT AAACAGGTCT CTGCCAGGTC TGATTGGATG CCACAGGAAA TCAGTCTATT GGCATGTGAT TGGAATGGGC ACCACTCCTG AAGTGCACTC AATATTCCTC GAAGGTCACA CATTTCTTGT GAGGAACCAT CGCCAGGCGT CCTTGGAAAT CTCGCCAATA ACTTTCCTTA CTGCTCAAAC ACTCTTGATG GACCTTGGAC AGTTTCTACT GTTTTGTCAT ATCTCTTCCC ACCAACATGA TGGCATGGAA GCTTATGTCA AAGTAGACAG CTGTCCAGAG GAACCCCAAC TACGAATGAA AAATAATGAA GAAGCGGAAG ACTATGATGA TGATCTTACT GATTCTGAAA TGGATGTGGT CAGGTTTGAT GATGACAACT CTCCTTCCTT TATCCAAATT CGCTCAGTTG CCAAGAAGCA TCCTAAAACT TGGGTACATT ACATTGCTGC TGAAGAGGAG GACTGGGACT ATGCTCCCTT AGTCCTCGCC CCCGATGACA GAAGTTATAA AAGTCAATAT TTGAACAATG GCCCTCAGCG GATTGGTAGG AAGTACAAAA AAGTCCGATT TATGGCATAC ACAGATGAAA CCTTTAAGAC TCGTGAAGCT ATTCAGCATG AATCAGGAAT CTTGGGACCT TTACTTTATG GGGAAGTTGG AGACACACTG TTGATTATAT TTAAGAATCA AGCAAGCAGA CCATATAACA TCTACCCTCA CGGAATCACT GATGTCCGTC CTTTGTATTC AAGGAGATTA CCAAAAGGTG TAAAACATTT GAAGGATTTT CCAATTCTGC CAGGAGAAAT ATTCAAATAT AAATGGACAG TGACTGTAGA AGATGGGCCA ACTAAATCAG ATCCTCGGTG CCTGACCCGC TATTACTCTA GTTTCGTTAA TATGGAGAGA GATCTAGCTT CAGGACTCAT TGGCCCTCTC CTCATCTGCT ACAAAGAATC TGTAGATCAA AGAGGAAACC AGATAATGTC AGACAAGAGG AATGTCATCC TGTTTTCTGT ATTTGATGAG AACCGAAGCT GGTACCTCAC AGAGAATATA CAACGCTTTC TCCCCAATCC AGCTGGAGTG CAGCTTGAGG ATCCAGAGTT CCAAGCCTCC AACATCATGC ACAGCATCAA TGGCTATGTT TTTGATAGTT TGCAGTTGTC AGTTTGTTTG CATGAGGTGG CATACTGGTA CATTCTAAGC ATTGGAGCAC AGACTGACTT CCTTTCTGTC TTCTTCTCTG GATATACCTT CAAACACAAA ATGGTCTATG AAGACACACT CACCCTATTC CCATTCTCAG GAGAAACTGT CTTCATGTCG

		ATGGAAAACC CAGGTCTATG GATTCTGGGG TGCCACAACT CAGACTTTCG GAACAGAGGC ATGACCGCCT TACTGAAGGT TTCTAGTTGT GACAAGAACA CTGGTGATTA TTACGAGGAC AGTTATGAAG ATATTTCAGC ATACTTGCTG AGTAAAAACA ATGCCATTGA ACCAAGAAGC TTCTCCCAAA ACCCACCAGT CTTGAAACGC GAAATAACTC GTACTACTCT TCAGTCAGAT CAAGAGGAAA TTGACTATGA TGATACCATA TCAGTTGAAA TGAAGAAGGA AGATTTTGAC ATTTATGATG AGGATGAAAA TCAGAGCCCC CGCAGCTTTC AAAAGAAAAC ACGACACTAT TTTATTGCTG CAGTGGAGAG GCTCTGGGAT TATGGGATGA GTAGCTCCCC ACATGTTCTA AGAAACAGGG CTCAGAGTGG CAGTGTCCCT CAGTTCAAGA AAGTTGTTTT CCAGGAATTT ACTGATGGCT CCTTTACTCA GCCCTTATAC CGTGGAGAAC TAAATGAACA TTTGGGACTC CTGGGGCCAT ATATAAGAGC AGAAGTTGAA GATAATATCA TGGTAACTTT CAGAAATCAG GCCTCTCGTC CCTATTCCTT CTATTCTAGC CTTATTTCTT ATGAGGAAGA TCAGAGGCAA GGAGCAGAAC CTAGAAAAAA CTTTGTCAAG CCTAATGAAA CCAAAACTTA CTTTTGGAAA GTGCAACATC ATATGGCACC CACTAAAGAT GAGTTTGACT GCAAAGCCTG GGCTTATTTC TCTGATGTTG ACCTGGAAAA AGATGTGCAC TCAGGCCTGA TTGGACCCCT TCTGGTCTGC CACACTAACA CACTGAACCC TGCTCATGGG AGACAAGTGA CAGTACAGGA ATTTGCTCTG TTTTTCACCA TCTTTGATGA GACCAAAAGC TGGTACTTCA CTGAAAATAT GGAAAGAAAC TGCAGGGCTC CCTGCAATAT CCAGATGGAA GATCCCACTT TTAAAGAGAA TTATCGCTTC CATGCAATCA ATGGCTACAT AATGGATACA CTACCTGGCT TAGTAATGGC TCAGGATCAA AGGATTCGAT GGTATCTGCT CAGCATGGGC AGCAATGAAA ACATCCATTC TATTCATTTC AGTGGACATG TGTTCACTGT ACGAAAAAAA GAGGAGTATA AAATGGCACT GTACAATCTC TATCCAGGTG TTTTTGAGAC AGTGGAAATG TTACCATCCA AAGCTGGAAT TTGGCGGGTG GAATGCCTTA TTGGCGAGCA TCTACATGCT GGGATGAGCA CACTTTTTCT GGTGTACAGC AATAAGTGTC AGACTCCCCT GGGAATGGCT TCTGGACACA TTAGAGATTT TCAGATTACA GCTTCAGGAC AATATGGACA GTGGGCCCCA AAGCTGGCCA GACTTCATTA TTCCGGATCA ATCAATGCCT GGAGCACCAA GGAGCCCTTT TCTTGGATCA AGGTGGATCT GTTGGCACCA ATGATTATTC ACGGCATCAA GACCCAGGGT GCCCGTCAGA AGTTCTCCAG CCTCTACATC TCTCAGTTTA TCATCATGTA TAGTCTTGAT GGGAAGAAGT GGCAGACTTA TCGAGGAAAT TCCACTGGAA CCTTAATGGT CTTCTTTGGC AATGTGGATT CATCTGGGAT AAAACACAAT ATTTTTAACC CTCCAATTAT TGCTCGATAC ATCCGTTTGC ACCCAACTCA TTATAGCATT CGCAGCACTC TTCGCATGGA GTTGATGGGC TGTGATTTAA ATAGTTGCAG CATGCCATTG GGAATGGAGA GTAAAGCAAT ATCAGATGCA CAGATTACTG CTTCATCCTA CTTTACCAAT ATGTTTGCCA CCTGGTCTCC TTCAAAAGCT CGACTTCACC TCCAAGGGAG GAGTAATGCC TGGAGACCTC AGGTGAATAA TCCAAAAGAG TGGCTGCAAG TGGACTTCCA GAAGACAATG AAAGTCACAG GAGTAACTAC TCAGGGAGTA AAATCTCTGC TTACCAGCAT GTATGTGAAG GAGTTCCTCA TCTCCAGCAG TCAAGATGGC CATCAGTGGA CTCTCTTTTT TCAGAATGGC AAAGTAAAGG TTTTTCAGGG AAATCAAGAC TCCTTCACAC CTGTGGTGAA CTCTCTAGAC CCACCGTTAC TGACTCGCTA CCTTCGAATT CACCCCCAGA GTTGGGTGCA CCAGATTGCC CTGAGGATGG AGGTTCTGGG CTGCGAGGCA CAGGACCTCT ACTGA
13	rhFVIII-BDD CO2	ATGCAGATCG AGCTGTCTAC CTGCTTCTTC CTGTGCCTGC TGCGGTTCTG 50 CTTCAGCGCC ACCAGAAGAT ATTACCTGGG CGCCGTGGAA CTGAGCTGGG 100 ACTACATGCA GTCTGACCTG GGAGAGCTGC CCGTGGACGC TAGATTTCCT 150 CCAAGAGTGC CCAAGAGCTT CCCCTTCAAC ACCTCCGTGG TGTACAAGAA 200 AACCCTGTTC GTGGAATTCA CCGACCACCT GTTCAATATC GCCAAGCCTC 250 GGCCTCCTTG GATGGGACTG CTGGGACCTA CAATTCAGGC CGAGGTGTAC 300 GACACCGTGG TCATCACCCT GAAGAACATG GCCAGCCATC CTGTGTCTCT 350 GCACGCCGTG GGAGTGTCTT ACTGGAAGGC TTCTGAGGGC GCCGAGTACG 400 ACGATCAGAC AAGCCAGAGA GAGAAAGAGG ACGACAAGGT TTTCCCTGGC 450

		GGCAGCCACA CCTATGTCTG GCAGGTCCTG AAAGAAAACG GCCCTATGGC 500 CTCCGATCCT CTGTGCCTGA CATACAGCTA CCTGAGCCAC GTGGACCTGG 550 TCAAGGACCT GAATTCTGGC CTGATCGGAG CCCTGCTCGT GTGTAGAGAA 600 GGCAGCCTGG CCAAAGAGAA AACCCAGACA CTGCACAAGT TCATCCTGCT 650 GTTCGCCGTG TTCGACGAGG GCAAGAGCTG GCACAGCGAG ACAAAGAACA 700 GCCTGATGCA GGACAGGGAT GCCGCCTCTG CTAGAGCTTG GCCTAAGATG 750 CACACCGTGA ACGGCTACGT GAACAGAAGC CTGCCTGGAC TGATCGGCTG 800 CCACAGAAAG TCCGTGTACT GGCACGTGAT CGGCATGGGC ACAACACCTG 850 AGGTGCACAG CATCTTTCTG GAAGGACACA CCTTCCTCGT GCGGAACCAT 900 AGACAGGCCA GCCTGGAAAT CAGCCCTATC ACCTTCCTGA CCGCTCAGAC 950 CCTGCTGATG GATCTGGGCC AGTTTCTGCT GTTCTGCCAC ATCAGCTCCC 1000 ACCAGCACGA TGGCATGGAA GCCTACGTGA AGGTGGACAG CTGCCCCGAA 1050 GAACCCCAGC TGCGGATGAA GAACAACGAG GAAGCCGAGG ACTACGACGA 1100 CGACCTGACC GACTCTGAGA TGGACGTCGT CAGATTCGAC GACGATAACA 1150 GCCCCAGCTT CATCCAGATC AGAAGCGTGG CCAAGAAGCA CCCCAAGACC 1200 TGGGTGCACT ATATCGCCGC CGAGGAAGAG GACTGGGATT ACGCTCCTCT 1250 GGTGCTGGCC CCTGACGACA GAAGCTACAA GAGCCAGTAC CTGAACAACG 1300 GCCCTCAGCG GATCGGCCGG AAGTATAAGA AAGTGCGGTT CATGGCCTAC 1350 ACCGACGAGA CATTCAAGAC CAGAGAGGCC ATCCAGCACG AGAGCGGAAT 1400 TCTGGGCCCT CTGCTGTATG GCGAAGTGGG CGATACACTG CTGATCATCT 1450 TCAAGAACCA GGCCAGCAGA CCCTACAACA TCTACCCTCA CGGCATCACC 1500 GATGTGCGGC CCCTGTATTC TAGAAGGCTG CCCAAGGGCG TGAAGCACCT 1550 GAAGGACTTC CCTATCCTGC CTGGCGAGAT CTTCAAGTAC AAGTGGACCG 1600 TGACCGTGGA AGATGGCCCC ACCAAGAGCG ACCCTAGATG TCTGACACGG 1650 TACTACAGCA GCTTCGTGAA CATGGAACGC GACCTGGCCA GCGGCCTGAT 1700 TGGACCTCTG CTGATCTGCT ACAAAGAAAG CGTGGACCAG CGGGGCAACC 1750 AGATCATGAG CGACAAGCGG AACGTGATCC TGTTTAGCGT GTTCGATGAG 1800 AACCGGTCCT GGTATCTGAC CGAGAACATC CAGCGGTTTC TGCCCAATCC 1850 TGCTGGCGTG CAGCTGGAAG ATCCTGAGTT CCAGGCCTCC AACATCATGC 1900 ACTCCATCAA TGGCTATGTG TTCGACAGCC TGCAGCTGAG CGTGTGCCTG 1950 CACGAAGTGG CCTACTGGTA CATCCTGAGC ATTGGCGCCC AGACCGACTT 2000 CCTGTCCGTG TTCTTTAGCG GCTACACCTT CAAGCACAAG ATGGTGTACG 2050 AGGATACCCT GACACTGTTC CCATTCAGCG GCGAGACAGT GTTCATGAGC 2100 ATGGAAAACC CCGGCCTGTG GATCCTGGGC TGTCACAACA GCGACTTCCG 2150 GAACAGAGGC ATGACAGCCC TGCTGAAGGT GTCCAGCTGC GACAAGAACA 2200 CCGGCGACTA CTACGAGGAC AGCTATGAGG ACATCAGCGC CTACCTGCTG 2250 AGCAAGAACA ATGCCATCGA GCCTCGGAGC TTCAGCCAGA ATCCTCCTGT 2300 GCTGAAGCGG CACCAGCGCG AGATCACCAG AACAACCCTG CAGAGCGACC 2350 AAGAGGAAAT CGATTACGAC GACACCATCA GCGTCGAGAT GAAGAAAGAA 2400 GATTTCGACA TCTACGACGA GGACGAGAAT CAGAGCCCCA GAAGCTTTCA 2450 GAAAAAGACC CGGCACTACT TCATTGCCGC CGTCGAGAGA CTGTGGGACT 2500 ACGGCATGTC TAGCAGCCCT CACGTGCTGA GAAATAGAGC CCAGAGCGGC 2550 AGCGTGCCCC AGTTCAAGAA AGTGGTGTTC CAAGAGTTCA CCGACGGCAG 2600 CTTCACCCAG CCACTGTATA GAGGCGAGCT GAACGAGCAT CTGGGCCTGC 2650 TGGGCCCTTA TATCAGAGCC GAAGTGGAAG ATAACATCAT GGTCACCTTC 2700 CGGAATCAGG CCTCTCGGCC CTACAGCTTC TACAGCTCCC TGATCAGCTA 2750 CGAAGAGGAC CAGAGACAGG GCGCTGAGCC CAGAAAGAAC TTCGTGAAGC 2800 CCAACGAGAC TAAGACCTAC TTTTGGAAGG TGCAGCACCA CATGGCCCCT 2850 ACAAAGGACG AGTTCGACTG CAAGGCCTGG GCCTACTTTT CCGATGTGGA 2900 TCTGGAAAAG GACGTGCACA GCGGGCTCAT CGGACCACTG CTTGTGTGCC 2950 ACACCAACAC ACTGAACCCC GCTCACGGCA GACAAGTGAC AGTGCAAGAG 3000 TTCGCCCTGT TCTTCACCAT CTTCGACGAA ACAAAGAGCT GGTACTTCAC 3050 CGAGAATATG GAACGGAACT GCAGAGCCCC TTGCAACATC CAGATGGAAG 3100 ATCCCACCTT CAAAGAGAAC TACCGGTTCC ACGCCATCAA CGGCTACATC 3150 ATGGACACAC TGCCCGGCCT GGTTATGGCT CAGGATCAGA GAATCCGGTG 3200

		GTATCTGCTG TCCATGGGCT CCAACGAGAA TATCCACAGC ATCCACTTCA	3250
		GCGGCCACGT GTTCACCGTG CGGAAAAAAG AAGAGTACAA AATGGCCCTG	3300
		TACAATCTGT ACCCTGGGGT GTTCGAAACC GTGGAAATGC TGCCTTCCAA	3350
		GGCCGGCATT TGGAGAGTGG AATGTCTGAT TGGAGAGCAC CTCCACGCCG	3400
		GAATGAGCAC CCTGTTTCTG GTGTACAGCA ACAAGTGTCA GACCCCTCTC	3450
		GGCATGGCCT CTGGACACAT CAGAGACTTC CAGATCACCG CCTCTGGCCA	3500
		GTACGGACAG TGGGCTCCTA AACTGGCTCG GCTGCACTAC AGCGGCAGCA	3550
		TCAATGCCTG GTCCACCAAA GAGCCCTTCA GCTGGATCAA GGTGGACCTG	3600
		CTGGCTCCCA TGATCATCCA CGGAATCAAG ACCCAGGGCG CCAGACAGAA	3650
		GTTCAGCAGC CTGTACATCA GCCAGTTCAT CATCATGTAC AGCCTGGACG	3700
		GCAAGAAGTG GCAGACCTAC AGAGGCAACA GCACCGGCAC ACTCATGGTG	3750
		TTCTTCGGCA ACGTGGACTC CAGCGGCATT AAGCACAACA TCTTCAACCC	3800
		TCCAATCATT GCCCGGTACA TCCGGCTGCA CCCCACACAC TACAGCATCC	3850
		GGTCTACCCT GAGAATGGAA CTGATGGGCT GCGACCTGAA CAGCTGCAGC	3900
		ATGCCCCTCG GAATGGAAAG CAAGGCCATC AGCGACGCCC AGATCACAGC	3950
		CAGCAGCTAC TTCACCAACA TGTTCGCCAC TTGGAGCCCC TCCAAGGCTA	4000
		GACTGCATCT GCAGGGCAGA AGCAACGCTT GGAGGCCCCA AGTGAACAAC	4050
		CCCAAAGAGT GGCTGCAGGT CGACTTTCAA AAGACCATGA AAGTGACCGG	4100
		CGTGACCACA CAGGGCGTCA AGTCTCTGCT GACCTCTATG TACGTGAAAG	4150
		AGTTCCTGAT CTCCAGCAGC CAGGACGGCC ATCAGTGGAC CCTGTTTTTC	4200
		CAGAACGGCA AAGTGAAAGT GTTCCAGGGC AATCAGGACA GCTTCACACC	4250
		CGTGGTCAAC TCCCTGGATC CTCCACTGCT GACCAGATAC CTGCGGATTC	4300
		ACCCTCAGTC TTGGGTGCAC CAGATCGCTC TGCGGATGGA AGTGCTGGGC	4350
		TGTGAAGCTC AGGACCTCTA CTGA	4374
14	rhFVIII-BDD CO3	ATGCAGATCG AGCTGAGCAC CTGCTTCTTC CTGTGCCTGC TGCGCTTCTG	50
		CTTCAGCGCC ACCCGCCGCT ACTACCTGGG CGCCGTGGAG CTGAGCTGGG	100
		ACTACATGCA GAGCGACCTG GGCGAGCTGC CCGTGGACGC CCGCTTCCCC	150
		CCCCGCGTGC CCAAGAGCTT CCCCTTCAAC ACCAGCGTGG TGTACAAGAA	200
		GACCCTGTTC GTGGAGTTCA CCGACCACCT GTTCAACATC GCCAAGCCCC	250
		GCCCCCCCTG GATGGGCCTG CTGGGCCCCA CCATCCAGGC CGAGGTGTAC	300
		GACACCGTGG TGATCACCCT GAAGAACATG GCCAGCCACC CCGTGAGCCT	350
		GCACGCCGTG GGCGTGAGCT ACTGGAAGGC CAGCGAGGGC GCCGAGTACG	400
		ACGACCAGAC CAGCCAGCGC GAGAAGGAGG ACGACAAGGT GTTCCCCGGC	450
		GGCAGCCACA CCTACGTGTG GCAGGTGCTG AAGGAGAACG GCCCCATGGC	500
		CAGCGACCCC CTGTGCCTGA CCTACAGCTA CCTGAGCCAC GTGGACCTGG	550
		TGAAGGACCT GAACAGCGGC CTGATCGGCG CCCTGCTGGT GTGCCGCGAG	600
		GGCAGCCTGG CCAAGGAGAA GACCCAGACC CTGCACAAGT TCATCCTGCT	650
		GTTCGCCGTG TTCGACGAGG GCAAGAGCTG GCACAGCGAG ACCAAGAACA	700
		GCCTGATGCA GGACCGCGAC GCCGCCAGCG CCCGCGCCTG GCCCAAGATG	750
		CACACCGTGA ACGGCTACGT GAACCGCAGC CTGCCCGGCC TGATCGGCTG	800
		CCACCGCAAG AGCGTGTACT GGCACGTGAT CGGCATGGGC ACCACCCCCG	850
		AGGTGCACAG CATCTTCCTG GAGGGCCACA CCTTCCTGGT GCGCAACCAC	900
		CGCCAGGCCA GCCTGGAGAT CAGCCCCATC ACCTTCCTGA CCGCCCAGAC	950
		CCTGCTGATG GACCTGGGCC AGTTCCTGCT GTTCTGCCAC ATCAGCAGCC	1000
		ACCAGCACGA CGGCATGGAG GCCTACGTGA AGGTGGACAG CTGCCCCGAG	1050
		GAGCCCCAGC TGCGCATGAA GAACAACGAG GAGGCCGAGG ACTACGACGA	1100
		CGACCTGACC GACAGCGAGA TGGACGTGGT GCGCTTCGAC GACGACAACA	1150
		GCCCCAGCTT CATCCAGATC CGCAGCGTGG CCAAGAAGCA CCCCAAGACC	1200
		TGGGTGCACT ACATCGCCGC CGAGGAGGAG GACTGGGACT ACGCCCCCCT	1250
		GGTGCTGGCC CCCGACGACC GCAGCTACAA GAGCCAGTAC CTGAACAACG	1300
		GCCCCCAGCG CATCGGCCGC AAGTACAAGA AGGTGCGCTT CATGGCCTAC	1350
		ACCGACGAGA CCTTCAAGAC CCGCGAGGCC ATCCAGCACG AGAGCGGCAT	1400
		CCTGGGCCCC CTGCTGTACG GCGAGGTGGG CGACACCCTG CTGATCATCT	1450
		TCAAGAACCA GGCCAGCCGC CCCTACAACA TCTACCCCCA CGGCATCACC	1500
		GACGTGCGCC CCCTGTACAG CCGCCGCCTG CCCAAGGGCG TGAAGCACCT	1550

		GAAGGACTTC CCCATCCTGC CCGGCGAGAT CTTCAAGTAC AAGTGGACCG 1600 TGACCGTGGA GGACGGCCCC ACCAAGAGCG ACCCCCGCTG CCTGACCCGC 1650 TACTACAGCA GCTTCGTGAA CATGGAGCGC GACCTGGCCA GCGGCCTGAT 1700 CGGCCCCCTG CTGATCTGCT ACAAGGAGAG CGTGGACCAG CGCGGCAACC 1750 AGATCATGAG CGACAAGCGC AACGTGATCC TGTTCAGCGT GTTCGACGAG 1800 AACCGCAGCT GGTACCTGAC CGAGAACATC CAGCGCTTCC TGCCCAACCC 1850 CGCCGGCGTG CAGCTGGAGG ACCCCGAGTT CCAGGCCAGC AACATCATGC 1900 ACAGCATCAA CGGCTACGTG TTCGACAGCC TGCAGCTGAG CGTGTGCCTG 1950 CACGAGGTGG CCTACTGGTA CATCCTGAGC ATCGGCGCCC AGACCGACTT 2000 CCTGAGCGTG TTCTTCAGCG GCTACACCTT CAAGCACAAG ATGGTGTACG 2050 AGGACACCCT GACCCTGTTC CCCTTCAGCG GCGAGACCGT GTTCATGAGC 2100 ATGGAGAACC CCGGCCTGTG GATCCTGGGC TGCCACAACA GCGACTTCCG 2150 CAACCGCGGC ATGACCGCCC TGCTGAAGGT GAGCAGCTGC GACAAGAACA 2200 CCGGCGACTA CTACGAGGAC AGCTACGAGG ACATCAGCGC CTACCTGCTG 2250 AGCAAGAACA ACGCCATCGA GCCCCGCAGC TTCAGCCAGA ACCCCCCCGT 2300 GCTGAAGCGC CACCAGCGCG AGATCACCCG CACCACCCTG CAGAGCGACC 2350 AGGAGGAGAT CGACTACGAC GACACCATCA GCGTGGAGAT GAAGAAGGAG 2400 GACTTCGACA TCTACGACGA GGACGAGAAC CAGAGCCCCC GCAGCTTCCA 2450 GAAGAAGACC CGCCACTACT TCATCGCCGC CGTGGAGCGC CTGTGGGACT 2500 ACGGCATGAG CAGCAGCCCC CACGTGCTGC GCAACCGCGC CCAGAGCGGC 2550 AGCGTGCCCC AGTTCAAGAA GGTGGTGTTC CAGGAGTTCA CCGACGGCAG 2600 CTTCACCCAG CCCCTGTACC GCGGCGAGCT GAACGAGCAC CTGGGCCTGC 2650 TGGGCCCCTA CATCCGCGCC GAGGTGGAGG ACAACATCAT GGTGACCTTC 2700 CGCAACCAGG CCAGCCGCCC CTACAGCTTC TACAGCAGCC TGATCAGCTA 2750 CGAGGAGGAC CAGCGCCAGG GCGCCGAGCC CCGCAAGAAC TTCGTGAAGC 2800 CCAACGAGAC CAAGACCTAC TTCTGGAAGG TGCAGCACCA CATGGCCCCC 2850 ACCAAGGACG AGTTCGACTG CAAGGCCTGG GCCTACTTCA GCGACGTGGA 2900 CCTGGAGAAG GACGTGCACA GCGGCCTGAT CGGCCCCCTG CTGGTGTGCC 2950 ACACCAACAC CCTGAACCCC GCCCACGGCC GCCAGGTGAC CGTGCAGGAG 3000 TTCGCCCTGT TCTTCACCAT CTTCGACGAG ACCAAGAGCT GGTACTTCAC 3050 CGAGAACATG GAGCGCAACT GCCGCGCCCC CTGCAACATC CAGATGGAGG 3100 ACCCCACCTT CAAGGAGAAC TACCGCTTCC ACGCCATCAA CGGCTACATC 3150 ATGGACACCC TGCCCGGCCT GGTGATGGCC CAGGACCAGC GCATCCGCTG 3200 GTACCTGCTG AGCATGGGCA GCAACGAGAA CATCCACAGC ATCCACTTCA 3250 GCGGCCACGT GTTCACCGTG CGCAAGAAGG AGGAGTACAA GATGGCCCTG 3300 TACAACCTGT ACCCCGGCGT GTTCGAGACC GTGGAGATGC TGCCCAGCAA 3350 GGCCGGCATC TGGCGCGTGG AGTGCCTGAT CGGCGAGCAC CTGCACGCCG 3400 GCATGAGCAC CCTGTTCCTG GTGTACAGCA ACAAGTGCCA GACCCCCCTG 3450 GGCATGGCCA GCGGCCACAT CCGCGACTTC CAGATCACCG CCAGCGGCCA 3500 GTACGGCCAG TGGGCCCCCA AGCTGGCCCG CCTGCACTAC AGCGGCAGCA 3550 TCAACGCCTG GAGCACCAAG GAGCCCTTCA GCTGGATCAA GGTGGACCTG 3600 CTGGCCCCCA TGATCATCCA CGGCATCAAG ACCCAGGGCG CCCGCCAGAA 3650 GTTCAGCAGC CTGTACATCA GCCAGTTCAT CATCATGTAC AGCCTGGACG 3700 GCAAGAAGTG GCAGACCTAC CGCGGCAACA GCACCGGCAC CCTGATGGTG 3750 TTCTTCGGCA ACGTGGACAG CAGCGGCATC AAGCACAACA TCTTCAACCC 3800 CCCCATCATC GCCCGCTACA TCCGCCTGCA CCCCACCCAC TACAGCATCC 3850 GCAGCACCCT GCGCATGGAG CTGATGGGCT GCGACCTGAA CAGCTGCAGC 3900 ATGCCCCTGG GCATGGAGAG CAAGGCCATC AGCGACGCCC AGATCACCGC 3950 CAGCAGCTAC TTCACCAACA TGTTCGCCAC CTGGAGCCCC AGCAAGGCCC 4000 GCCTGCACCT GCAGGGCCGC AGCAACGCCT GGCGCCCCCA GGTGAACAAC 4050 CCCAAGGAGT GGCTGCAGGT GGACTTCCAG AAGACCATGA AGGTGACCGG 4100 CGTGACCACC CAGGGCGTGA AGAGCCTGCT GACCAGCATG TACGTGAAGG 4150 AGTTCCTGAT CAGCAGCAGC CAGGACGGCC ACCAGTGGAC CCTGTTCTTC 4200 CAGAACGGCA AGGTGAAGGT GTTCCAGGGC AACCAGGACA GCTTCACCCC 4250 CGTGGTGAAC AGCCTGGACC CCCCCCTGCT GACCCGCTAC CTGCGCATCC 4300

		ACCCCCAGAG CTGGGTGCAC CAGATCGCCC TGCGCATGGA GGTGCTGGGC	4350
		TGCGAGGCCC AGGACCTGTA CTGA	4374
15	rhFVIII-BDD CO6	ATGCAGATTG AGCTGAGCAC CTGTTTCTTC CTGTGCCTGC TGAGATTTTG	50
		CTTCTCAGCT ACCCGCAGGT ACTACCTGGG AGCCGTTGAG CTGTCCTGGG	100
		ATTACATGCA GTCAGATCTG GGGGAGCTGC CTGTGGACGC TCGGTTTCCC	150
		CCCAGAGTGC CAAAGTCCTT TCCCTTCAAC ACCAGCGTGG TGTACAAAAA	200
		GACACTTTTT GTTGAATTTA CTGACCACTT GTTCAACATC GCCAAGCCAC	250
		GACCCCCATG GATGGGCCTG CTGGGGCCAA CCATTCAGGC AGAGGTTTAC	300
		GACACAGTCG TGATCACACT GAAGAACATG GCCTCCCATC CAGTGTCTCT	350
		GCACGCCGTC GGTGTGTCCT ACTGGAAAGC ATCCGAGGGC GCCGAGTATG	400
		ACGACCAGAC CAGCCAGAGA GAGAAAGAGG ACGACAAAGT GTTCCCTGGA	450
		GGCAGCCACA CCTACGTGTG GCAGGTGTTG AAGGAAAATG GGCCCATGGC	500
		CAGTGACCCT TTGTGTCTGA CTTACTCATA CCTGTCTCAT GTGGATCTAG	550
		TCAAGGACCT GAATTCTGGA CTGATTGGGG CACTGCTTGT GTGCCGCGAA	600
		GGCAGCCTGG CCAAAGAAAA GACACAGACC CTTCACAAGT TCATCCTGCT	650
		GTTCGCCGTG TTCGACGAAG GCAAATCCTG GCACTCAGAA ACCAAAAACT	700
		CACTGATGCA GGACCGGGAT GCCGCCTCTG CCCGCGCATG GCCAAAAATG	750
		CACACCGTCA ACGGCTATGT CAATAGAAGT TTGCCCGGCC TCATTGGATG	800
		TCACAGGAAA AGCGTCTATT GGCATGTAAT CGGGATGGGA ACCACACCTG	850
		AGGTCCACAG CATATTTCTG GAAGGCCACA CATTTCTGGT GAGAAATCAT	900
		CGCCAGGCTT CCCTGGAAAT TTCCCCCATC ACCTTCTTGA CCGCCCAGAC	950
		ACTGCTCATG GATCTTGGGC AGTTTCTGCT GTTTTGTCAT ATTTCTTCTC	1000
		ACCAACACGA CGGAATGGAG GCCTACGTTA AGGTCGATAG TTGCCCTGAA	1050
		GAACCTCAGC TGAGGATGAA GAACAACGAG GAAGCCGAGG ACTACGATGA	1100
		CGATTTGACC GATTCCGAAA TGGACGTGGT GCGCTTTGAT GATGACAATT	1150
		CTCCATCCTT CATTCAGATT AGATCCGTCG CCAAGAAGCA CCCCAAGACC	1200
		TGGGTGCACT ACATTGCAGC CGAGGAGGAG GATTGGGACT ACGCCCCCCT	1250
		GGTGCTGGCA CCCGACGACC GAAGCTACAA ATCTCAGTAC CTGAACAATG	1300
		GTCCACAACG GATCGGCAGG AAGTACAAGA AAGTGCGGTT CATGGCCTAT	1350
		ACAGACGAAA CCTTCAAAAC CAGGGAGGCT ATCCAGCACG AGTCTGGGAT	1400
		TCTGGGACCA CTCCTGTACG GCGAAGTGGG CGACACCTTG TTAATTATCT	1450
		TCAAGAACCA GGCTAGTAGA CCTTATAACA TTTATCCCCA CGGCATTACC	1500
		GATGTGCGGC CTCTCTACTC TAGGCGGCTT CCAAAGGGGG TGAAACACCT	1550
		GAAGGACTTT CCCATCCTCC CTGGCGAAAT CTTTAAGTAT AAGTGGACAG	1600
		TGACCGTGGA GGATGGACCA ACCAAGAGCG ACCCCAGGTG CCTGACACGC	1650
		TATTATTCAA GCTTCGTGAA TATGGAAAGG GACCTCGCAT CTGGCTTGAT	1700
		CGGCCCTCTG CTGATATGTT ACAAGGAAAG CGTCGATCAG AGAGGAAATC	1750
		AGATCATGTC AGACAAAAGG AATGTGATCC TGTTCTCCGT CTTCGATGAA	1800
		AACAGGAGCT GGTATCTGAC AGAGAACATC CAGAGATTCC TGCCAAATCC	1850
		CGCCGGCGTC CAGCTGGAGG ACCCGGAGTT TCAGGCATCT AACATCATGC	1900
		ATTCCATTAA TGGTTACGTG TTCGACTCCC TGCAGCTGAG CGTGTGCCTC	1950
		CACGAGGTGG CCTACTGGTA CATCTTGAGC ATCGGCGCCC AGACCGACTT	2000
		TCTGAGCGTC TTTTTCTCCG GGTATACTTT CAAACATAAG ATGGTGTACG	2050
		AAGATACTCT GACGCTGTTC CCTTTCTCTG GGGAGACTGT GTTTATGTCT	2100
		ATGGAGAACC CTGGACTGTG GATTCTCGGA TGCCACAACA GTGACTTTCG	2150
		TAATAGAGGG ATGACTGCAC TGCTGAAGGT GTCCAGCTGT GATAAAAATA	2200
		CTGGCGACTA CTACGAAGAT AGCTATGAGG ATATCTCAGC ATACCTGCTG	2250
		AGCAAGAATA ACGCCATCGA GCCCCGAAGC TTCTCACAGA ATCCCCCTGT	2300
		CCTCAAGAGG CACCAGCGAG AGATCACAAG GACCACACTC CAGTCCGACC	2350
		AGGAGGAGAT TGACTACGAT GACACGATTT CTGTGGAGAT GAAAAAAGAG	2400
		GACTTTGACA TCTACGATGA GGATGAAAAC CAGAGCCCTA GGTCGTTCCA	2450
		GAAGAAAACA AGGCACTACT TCATTGCCGC CGTGGAGAGA CTGTGGGACT	2500
		ACGGAATGAG TAGTTCCCCA CACGTGTTGC GGAACAGAGC CCAGAGTGGG	2550
		TCCGTCCCAC AGTTCAAGAA GGTTGTTTTC CAGGAGTTCA CAGATGGCTC	2600
		CTTCACTCAG CCACTGTATC GCGGCGAGCT GAATGAGCAC TTGGGCTTAT	2650

		TGGGCCCCTA CATTCGCGCA GAAGTCGAAG ATAATATTAT GGTGACCTTC	2700
		CGCAACCAGG CCAGCCGGCC TTACTCATTC TACTCCTCTC TCATCTCTTA	2750
		TGAGGAGGAT CAGCGCCAGG GCGCCGAACC CCGGAAGAAC TTTGTGAAGC	2800
		CCAATGAAAC CAAAACTTAC TTTTGGAAGG TGCAGCACCA TATGGCGCCG	2850
		ACGAAAGACG AATTTGACTG CAAAGCCTGG GCCTACTTCA GCGACGTCGA	2900
		CTTGGAGAAG GACGTCCACA GCGGCCTGAT TGGCCCTTTG TTGGTCTGCC	2950
		ATACCAATAC ACTCAACCCT GCCCACGGGA GGCAGGTGAC CGTGCAGGAG	3000
		TTTGCCTTGT TCTTCACCAT CTTCGACGAA ACCAAGAGCT GGTACTTCAC	3050
		AGAGAACATG GAGAGGAACT GCAGAGCACC CTGTAACATC CAGATGGAGG	3100
		ACCCTACTTT CAAGGAAAAT TACAGGTTCC ATGCCATTAA TGGCTACATC	3150
		ATGGATACCC TCCCCGGGCT TGTGATGGCT CAGGACCAGC GCATCCGCTG	3200
		GTACCTGCTC TCAATGGGCT CCAACGAGAA CATTCATAGC ATCCACTTTA	3250
		GTGGCCACGT GTTTACCGTG CGCAAGAAGG AGGAGTACAA GATGGCACTG	3300
		TACAACCTGT ACCCTGGCGT GTTTGAGACA GTGGAGATGC TGCCATCCAA	3350
		GGCCGGCATC TGGCGCGTGG AGTGCCTCAT TGGGGAGCAC CTCCATGCTG	3400
		GCATGTCTAC ACTGTTCCTG GTGTACAGCA ACAAGTGTCA GACTCCACTC	3450
		GGAATGGCCT CCGGGCATAT CCGCGATTTT CAGATCACGG CCTCTGGCCA	3500
		GTATGGCCAA TGGGCTCCCA AGCTGGCCAG GCTGCACTAC AGTGGGAGTA	3550
		TCAACGCTTG GAGCACCAAG GAGCCTTTCT CCTGGATCAA GGTGGACCTG	3600
		CTTGCCCCCA TGATTATTCA CGGCATTAAG ACACAGGGGG CCAGGCAGAA	3650
		ATTCTCCTCC CTGTACATCT CCCAGTTCAT CATCATGTAC AGTCTGGACG	3700
		GCAAAAAGTG GCAGACCTAC CGCGGGAACA GTACCGGGAC ATTGATGGTG	3750
		TTCTTCGGGA ACGTGGACTC TAGCGGCATT AAACACAACA TTTTCAACCC	3800
		CCCCATCATT GCTAGGTATA TCAGGCTCCA TCCCACCCAC TATAGCATCA	3850
		GGTCCACTCT GCGGATGGAG CTGATGGGCT GCGACCTTAA TTCATGCAGC	3900
		ATGCCGCTGG GCATGGAGTC AAAGGCCATC TCCGACGCCC AAATCACCGC	3950
		CTCCAGCTAC TTCACCAATA TGTTCGCCAC CTGGAGCCCC AGCAAGGCCC	4000
		GGCTGCACCT GCAGGGCCGC AGCAACGCCT GGCGGCCTCA GGTGAACAAC	4050
		CCCAAGGAGT GGCTGCAGGT GGACTTCCAG AAAACCATGA AGGTGACTGG	4100
		GGTCACCACC CAGGGAGTCA AGAGCCTGCT GACCAGCATG TATGTGAAGG	4150
		AGTTCTTGAT CAGCTCGTCA CAGGATGGCC ACCAGTGGAC TTTGTTCTTT	4200
		CAGAACGGTA AGGTGAAAGT GTTCCAGGGA AACCAAGATT CCTTTACACC	4250
		AGTGGTCAAC TCTCTGGATC CTCCCCTGCT GACACGGTAC CTGCGGATCC	4300
		ATCCCCAGTC ATGGGTGCAC CAGATTGCTC TGCGCATGGA GGTGCTTGGC	4350
		TGCGAGGCCC AGGACCTGTA CTGA	4374
16	rhFVIII-BDD CO6 sc2	ATGCAGATTG AGCTGAGCAC CTGTTTCTTC CTGTGCCTGC TGAGATTTTG	50
		CTTCTCAGCT ACCCGCAGGT ACTACCTGGG AGCCGTTGAG CTGTCCTGGG	100
		ATTACATGCA GTCAGATCTG GGGGAGCTGC CTGTGGACGC TCGGTTTCCC	150
		CCCAGAGTGC CAAAGTCCTT TCCCTTCAAC ACCAGCGTGG TGTACAAAAA	200
		GACACTTTTT GTTGAATTTA CTGACCACTT GTTCAACATC GCCAAGCCAC	250
		GACCCCCATG GATGGGCCTG CTGGGGCCAA CCATTCAGGC AGAGGTTTAC	300
		GACACAGTCG TGATCACACT GAAGAACATG GCCTCCCATC CAGTGTCTCT	350
		GCACGCCGTC GGTGTGTCCT ACTGGAAAGC ATCCGAGGGC GCCGAGTATG	400
		ACGACCAGAC CAGCCAGAGA GAGAAAGAGG ACGACAAAGT GTTCCCTGGA	450
		GGCAGCCACA CCTACGTGTG GCAGGTGTTG AAGGAAAATG GGCCCATGGC	500
		CAGTGACCCT TTGTGTCTGA CTTACTCATA CCTGTCTCAT GTGGATCTAG	550
		TCAAGGACCT GAATTCTGGA CTGATTGGGG CACTGCTTGT GTGCCGCGAA	600
		GGCAGCCTGG CCAAAGAAAA GACACAGACC CTTCACAAGT TCATCCTGCT	650
		GTTCGCCGTG TTCGACGAAG GCAAATCCTG GCACTCAGAA ACCAAAAACT	700
		CACTGATGCA GGACCGGGAT GCCGCCTCTG CCCGCGCATG GCCAAAAATG	750
		CACACCGTCA ACGGCTATGT CAATAGAAGT TTGCCCGGCC TCATTGGATG	800
		TCACAGGAAA AGCGTCTATT GGCATGTAAT CGGGATGGGA ACCACACCTG	850
		AGGTCCACAG CATATTTCTG GAAGGCCACA CATTTCTGGT GAGAAATCAT	900
		CGCCAGGCTT CCCTGGAAAT TTCCCCCATC ACCTTCTTGA CCGCCCAGAC	950
		ACTGCTCATG GATCTTGGGC AGTTTCTGCT GTTTTGTCAT ATTTCTTCTC	1000

		ACCAACACGA CGGAATGGAG GCCTACGTTA AGGTCGATAG TTGCCCTGAA 1050 GAACCTCAGC TGAGGATGAA GAACAACGAG GAAGCCGAGG ACTACGATGA 1100 CGATTTGACC GATTCCGAAA TGGACGTGGT GCGCTTTGAT GATGACAATT 1150 CTCCATCCTT CATTCAGATT AGATCCGTCG CCAAGAAGCA CCCCAAGACC 1200 TGGGTGCACT ACATTGCAGC CGAGGAGGAG GATTGGGACT ACGCCCCCCT 1250 GGTGCTGGCA CCCGACGACC GAAGCTACAA ATCTCAGTAC CTGAACAATG 1300 GTCCACAACG GATCGGCAGG AAGTACAAGA AAGTGCGGTT CATGGCCTAT 1350 ACAGACGAAA CCTTCAAAAC CAGGGAGGCT ATCCAGCACG AGTCTGGGAT 1400 TCTGGGACCA CTCCTGTACG GCGAAGTGGG CGACACCTTG TTAATTATCT 1450 TCAAGAACCA GGCTAGTAGA CCTTATAACA TTTATCCCCA CGGCATTACC 1500 GATGTGCGGC CTCTCTACTC TAGGCGGCTT CCAAAGGGGG TGAAACACCT 1550 GAAGGACTTT CCCATCCTCC CTGGCGAAAT CTTTAAGTAT AAGTGGACAG 1600 TGACCGTGGA GGATGGACCA ACCAAGAGCG ACCCCAGGTG CCTGACACGC 1650 TATTATTCAA GCTTCGTGAA TATGGAAAGG GACCTCGCAT CTGGCTTGAT 1700 CGGCCCTCTG CTGATATGTT ACAAGGAAAG CGTCGATCAG AGAGGAAATC 1750 AGATCATGTC AGACAAAAGG AATGTGATCC TGTTCTCCGT CTTCGATGAA 1800 AACAGGAGCT GGTATCTGAC AGAGAACATC CAGAGATTCC TGCCAAATCC 1850 CGCCGGCGTC CAGCTGGAGG ACCCGGAGTT TCAGGCATCT AACATCATGC 1900 ATTCCATTAA TGGTTACGTG TTCGACTCCC TGCAGCTGAG CGTGTGCCTC 1950 CACGAGGTGG CCTACTGGTA CATCTTGAGC ATCGGCGCCC AGACCGACTT 2000 TCTGAGCGTC TTTTTCTCCG GGTATACTTT CAAACATAAG ATGGTGTACG 2050 AAGATACTCT GACGCTGTTC CCTTTCTCTG GGGAGACTGT GTTTATGTCT 2100 ATGGAGAACC CTGGACTGTG GATTCTCGGA TGCCACAACA GTGACTTTCG 2150 TAATAGAGGG ATGACTGCAC TGCTGAAGGT GTCCAGCTGT GATAAAAATA 2200 CTGGCGACTA CTACGAAGAT AGCTATGAGG ATATCTCAGC ATACCTGCTG 2250 AGCAAGAATA ACGCCATCGA GCCCCGAAGC TTCTCACAGA ATCCCCCTGT 2300 CCTCAAGGCC CACCAGGCGG AGATCACAAG GACCACACTC CAGTCCGACC 2350 AGGAGGAGAT TGACTACGAT GACACGATTT CTGTGGAGAT GAAAAAAGAG 2400 GACTTTGACA TCTACGATGA GGATGAAAAC CAGAGCCCTA GGTCGTTCCA 2450 GAAGAAAACA AGGCACTACT TCATTGCCGC CGTGGAGAGA CTGTGGGACT 2500 ACGGAATGAG TAGTTCCCCA CACGTGTTGC GGAACAGAGC CCAGAGTGGG 2550 TCCGTCCCAC AGTTCAAGAA GGTTGTTTTC CAGGAGTTCA CAGATGGCTC 2600 CTTCACTCAG CCACTGTATC GCGGCGAGCT GAATGAGCAC TTGGGCTTAT 2650 TGGGCCCCTA CATTCGCGCA GAAGTCGAAG ATAATATTAT GGTGACCTTC 2700 CGCAACCAGG CCAGCCGGCC TTACTCATTC TACTCCTCTC TCATCTCTTA 2750 TGAGGAGGAT CAGCGCCAGG GCGCCGAACC CCGGAAGAAC TTTGTGAAGC 2800 CCAATGAAAC CAAAACTTAC TTTTGGAAGG TGCAGCACCA TATGGCGCCG 2850 ACGAAAGACG AATTTGACTG CAAAGCCTGG GCCTACTTCA GCGACGTCGA 2900 CTTGGAGAAG GACGTCCACA GCGGCCTGAT TGGCCCTTTG TTGGTCTGCC 2950 ATACCAATAC ACTCAACCCT GCCCACGGGA GGCAGGTGAC CGTGCAGGAG 3000 TTTGCCTTGT TCTTCACCAT CTTCGACGAA ACCAAGAGCT GGTACTTCAC 3050 AGAGAACATG GAGAGGAACT GCAGAGCACC CTGTAACATC CAGATGGAGG 3100 ACCCTACTTT CAAGGAAAAT TACAGGTTCC ATGCCATTAA TGGCTACATC 3150 ATGGATACCC TCCCCGGGCT TGTGATGGCT CAGGACCAGC GCATCCGCTG 3200 GTACCTGCTC TCAATGGGCT CCAACGAGAA CATTCATAGC ATCCACTTTA 3250 GTGGCCACGT GTTTACCGTG CGCAAGAAGG AGGAGTACAA GATGGCACTG 3300 TACAACCTGT ACCCTGGCGT GTTTGAGACA GTGGAGATGC TGCCATCCAA 3350 GGCCGGCATC TGGCGCGTGG AGTGCCTCAT TGGGGAGCAC CTCCATGCTG 3400 GCATGTCTAC ACTGTTCCTG GTGTACAGCA ACAAGTGTCA GACTCCACTC 3450 GGAATGGCCT CCGGGCATAT CCGCGATTTT CAGATCACGG CCTCTGGCCA 3500 GTATGGCCAA TGGGCTCCCA AGCTGGCCAG GCTGCACTAC AGTGGGAGTA 3550 TCAACGCTTG GAGCACCAAG GAGCCTTTCT CCTGGATCAA GGTGGACCTG 3600 CTTGCCCCCA TGATTATTCA CGGCATTAAG ACACAGGGGG CCAGGCAGAA 3650 ATTCTCCTCC CTGTACATCT CCCAGTTCAT CATCATGTAC AGTCTGGACG 3700 GCAAAAAGTG GCAGACCTAC CGCGGGAACA GTACCGGGAC ATTGATGGTG 3750

		TTCTTCGGGA ACGTGGACTC TAGCGGCATT AAACACAACA TTTTCAACCC	3800
		CCCCATCATT GCTAGGTATA TCAGGCTCCA TCCCACCCAC TATAGCATCA	3850
		GGTCCACTCT GCGGATGGAG CTGATGGGCT GCGACCTTAA TTCATGCAGC	3900
		ATGCCGCTGG GCATGGAGTC AAAGGCCATC TCCGACGCCC AAATCACCGC	3950
		CTCCAGCTAC TTCACCAATA TGTTCGCCAC CTGGAGCCCC AGCAAGGCCC	4000
		GGCTGCACCT GCAGGGCCGC AGCAACGCCT GGCGGCCTCA GGTGAACAAC	4050
		CCCAAGGAGT GGCTGCAGGT GGACTTCCAG AAAACCATGA AGGTGACTGG	4100
		GGTCACCACC CAGGGAGTCA AGAGCCTGCT GACCAGCATG TATGTGAAGG	4150
		AGTTCTTGAT CAGCTCGTCA CAGGATGGCC ACCAGTGGAC TTTGTTCTTT	4200
		CAGAACGGTA AGGTGAAAGT GTTCCAGGGA AACCAAGATT CCTTTACACC	4250
		AGTGGTCAAC TCTCTGGATC CTCCCCTGCT GACACGGTAC CTGCGGATCC	4300
		ATCCCCAGTC ATGGGTGCAC CAGATTGCTC TGCGCATGGA GGTGCTTGGC	4350
		TGCGAGGCCC AGGACCTGTA CTGA	4374
17	rhScFVIII-BDD **回加** (AHQA)	ATGCAGATTG AGCTGAGCAC CTGTTTCTTC CTGTGCCTGC TGAGATTTTG	50
		CTTCTCAGCT ACCCGCAGGT ACTACCTGGG AGCCGTTGAG CTGTCCTGGG	100
		ATTACATGCA GTCAGATCTG GGGGAGCTGC CTGTGGACGC TCGGTTTCCC	150
		CCCAGAGTGC CAAAGTCCTT TCCCTTCAAC ACCAGCGTGG TGTACAAAAA	200
		GACACTTTTT GTTGAATTTA CTGACCACTT GTTCAACATC GCCAAGCCAC	250
		GACCCCCATG GATGGGCCTG CTGGGGCCAA CCATTCAGGC AGAGGTTTAC	300
		GACACAGTCG TGATCACACT GAAGAACATG GCCTCCCATC CAGTGTCTCT	350
		GCACGCCGTC GGTGTGTCCT ACTGGAAAGC ATCCGAGGGC GCCGAGTATG	400
		ACGACCAGAC CAGCCAGAGA GAGAAAGAGG ACGACAAAGT GTTCCCTGGA	450
		GGCAGCCACA CCTACGTGTG GCAGGTGTTG AAGGAAAATG GGCCCATGGC	500
		CAGTGACCCT TTGTGTCTGA CTTACTCATA CCTGTCTCAT GTGGATCTAG	550
		TCAAGGACCT GAATTCTGGA CTGATTGGGG CACTGCTTGT GTGCCGCGAA	600
		GGCAGCCTGG CCAAAGAAAA GACACAGACC CTTCACAAGT TCATCCTGCT	650
		GTTCGCCGTG TTCGACGAAG GCAAATCCTG GCACTCAGAA ACCAAAAACT	700
		CACTGATGCA GGACCGGGAT GCCGCCTCTG CCCGCGCATG GCCAAAAATG	750
		CACACCGTCA ACGGCTATGT CAATAGAAGT TTGCCCGGCC TCATTGGATG	800
		TCACAGGAAA AGCGTCTATT GGCATGTAAT CGGGATGGGA ACCACACCTG	850
		AGGTCCACAG CATATTTCTG GAAGGCCACA CATTTCTGGT GAGAAATCAT	900
		CGCCAGGCTT CCCTGGAAAT TTCCCCCATC ACCTTCTTGA CCGCCCAGAC	950
		ACTGCTCATG GATCTTGGGC AGTTTCTGCT GTTTTGTCAT ATTTCTTCTC	1000
		ACCAACACGA CGGAATGGAG GCCTACGTTA AGGTCGATAG TTGCCCTGAA	1050
		GAACCTCAGC TGAGGATGAA GAACAACGAG GAAGCCGAGG ACTACGATGA	1100
		CGATTTGACC GATTCCGAAA TGGACGTGGT GCGCTTTGAT GATGACAATT	1150
		CTCCATCCTT CATTCAGATT AGATCCGTCG CCAAGAAGCA CCCCAAGACC	1200
		TGGGTGCACT ACATTGCAGC CGAGGAGGAG GATTGGGACT ACGCCCCCCT	1250
		GGTGCTGGCA CCCGACGACC GAAGCTACAA ATCTCAGTAC CTGAACAATG	1300
		GTCCACAACG GATCGGCAGG AAGTACAAGA AAGTGCGGTT CATGGCCTAT	1350
		ACAGACGAAA CCTTCAAAAC CAGGGAGGCT ATCCAGCACG AGTCTGGGAT	1400
		TCTGGGACCA CTCCTGTACG GCGAAGTGGG CGACACCTTG TTAATTATCT	1450
		TCAAGAACCA GGCTAGTAGA CCTTATAACA TTTATCCCCA CGGCATTACC	1500
		GATGTGCGGC CTCTCTACTC TAGGCGGCTT CCAAAGGGGG TGAAACACCT	1550
		GAAGGACTTT CCCATCCTCC CTGGCGAAAT CTTTAAGTAT AAGTGGACAG	1600
		TGACCGTGGA GGATGGACCA ACCAAGAGCG ACCCCAGGTG CCTGACACGC	1650
		TATTATTCAA GCTTCGTGAA TATGGAAAGG GACCTCGCAT CTGGCTTGAT	1700
		CGGCCCTCTG CTGATATGTT ACAAGGAAAG CGTCGATCAG AGAGGAAATC	1750
		AGATCATGTC AGACAAAAGG AATGTGATCC TGTTCTCCGT CTTCGATGAA	1800
		AACAGGAGCT GGTATCTGAC AGAGAACATC CAGAGATTCC TGCCAAATCC	1850
		CGCCGGCGTC CAGCTGGAGG ACCCGGAGTT TCAGGCATCT AACATCATGC	1900
		ATTCCATTAA TGGTTACGTG TTCGACTCCC TGCAGCTGAG CGTGTGCCTC	1950
		CACGAGGTGG CCTACTGGTA CATCTTGAGC ATCGGCGCCC AGACCGACTT	2000
		TCTGAGCGTC TTTTTCTCCG GGTATACTTT CAAACATAAG ATGGTGTACG	2050
		AAGATACTCT GACGCTGTTC CCTTTCTCTG GGGAGACTGT GTTTATGTCT	2100

		ATGGAGAACC CTGGACTGTG GATTCTCGGA TGCCACAACA GTGACTTTCG 2150 TAATAGAGGG ATGACTGCAC TGCTGAAGGT GTCCAGCTGT GATAAAAATA 2200 CTGGCGACTA CTACGAAGAT AGCTATGAGG ATATCTCAGC ATACCTGCTG 2250 AGCAAGAATA ACGCCATCGA GCCCCGAAGC TTCTCACAGA ATGCCACCAA 2300 CGTGAGCAAC AACAGCAACA CCAGCAACGA CAGCAACGTG AGCCCCCCTG 2350 TCCTCAAGGC CCACCAGGCG GAGATCACAA GGACCACACT CCAGTCCGAC 2400 CAGGAGGAGA TTGACTACGA TGACACGATT TCTGTGGAGA TGAAAAAAGA 2450 GGACTTTGAC ATCTACGATG AGGATGAAAA CCAGAGCCCT AGGTCGTTCC 2500 AGAAGAAAAC AAGGCACTAC TTCATTGCCG CCGTGGAGAG ACTGTGGGAC 2550 TACGGAATGA GTAGTTCCCC ACACGTGTTG CGGAACAGAG CCCAGAGTGG 2600 GTCCGTCCCA CAGTTCAAGA AGGTTGTTTT CCAGGAGTTC ACAGATGGCT 2650 CCTTCACTCA GCCACTGTAT CGCGGCGAGC TGAATGAGCA CTTGGGCTTA 2700 TTGGGCCCCT ACATTCGCGC AGAAGTCGAA GATAATATTA TGGTGACCTT 2750 CCGCAACCAG GCCAGCCGGC CTTACTCATT CTACTCCTCT CTCATCTCTT 2800 ATGAGGAGGA TCAGCGCCAG GGCGCCGAAC CCCGGAAGAA CTTTGTGAAG 2850 CCCAATGAAA CCAAAACTTA CTTTTGGAAG GTGCAGCACC ATATGGCGCC 2900 GACGAAAGAC GAATTTGACT GCAAAGCCTG GGCCTACTTC AGCGACGTCG 2950 ACTTGGAGAA GGACGTCCAC AGCGGCCTGA TTGGCCCTTT GTTGGTCTGC 3000 CATACCAATA CACTCAACCC TGCCCACGGG AGGCAGGTGA CCGTGCAGGA 3050 GTTTGCCTTG TTCTTCACCA TCTTCGACGA AACCAAGAGC TGGTACTTCA 3100 CAGAGAACAT GGAGAGGAAC TGCAGAGCAC CCTGTAACAT CCAGATGGAG 3150 GACCCTACTT TCAAGGAAAA TTACAGGTTC CATGCCATTA ATGGCTACAT 3200 CATGGATACC CTCCCCGGGC TTGTGATGGC TCAGGACCAG CGCATCCGCT 3250 GGTACCTGCT CTCAATGGGC TCCAACGAGA ACATTCATAG CATCCACTTT 3300 AGTGGCCACG TGTTTACCGT GCGCAAGAAG GAGGAGTACA AGATGGCACT 3350 GTACAACCTG TACCCTGGCG TGTTTGAGAC AGTGGAGATG CTGCCATCCA 3400 AGGCCGGCAT CTGGCGCGTG GAGTGCCTCA TTGGGGAGCA CCTCCATGCT 3450 GGCATGTCTA CACTGTTCCT GGTGTACAGC AACAAGTGTC AGACTCCACT 3500 CGGAATGGCC TCCGGGCATA TCCGCGATTT TCAGATCACG GCCTCTGGCC 3550 AGTATGGCCA ATGGGCTCCC AAGCTGGCCA GGCTGCACTA CAGTGGGAGT 3600 ATCAACGCTT GGAGCACCAA GGAGCCTTTC TCCTGGATCA AGGTGGACCT 3650 GCTTGCCCCC ATGATTATTC ACGGCATTAA GACACAGGGG GCCAGGCAGA 3700 AATTCTCCTC CCTGTACATC TCCCAGTTCA TCATCATGTA CAGTCTGGAC 3750 GGCAAAAAGT GGCAGACCTA CCGCGGGAAC AGTACCGGGA CATTGATGGT 3800 GTTCTTCGGG AACGTGGACT CTAGCGGCAT TAAACACAAC ATTTTCAACC 3850 CCCCCATCAT TGCTAGGTAT ATCAGGCTCC ATCCCACCCA CTATAGCATC 3900 AGGTCCACTC TGCGGATGGA GCTGATGGGC TGCGACCTTA ATTCATGCAG 3950 CATGCCGCTG GGCATGGAGT CAAAGGCCAT CTCCGACGCC CAAATCACCG 4000 CCTCCAGCTA CTTCACCAAT ATGTTCGCCA CCTGGAGCCC CAGCAAGGCC 4050 CGGCTGCACC TGCAGGGCCG CAGCAACGCC TGGCGGCCTC AGGTGAACAA 4100 CCCCAAGGAG TGGCTGCAGG TGGACTTCCA GAAAACCATG AAGGTGACTG 4150 GGGTCACCAC CCAGGGAGTC AAGAGCCTGC TGACCAGCAT GTATGTGAAG 4200 GAGTTCTTGA TCAGCTCGTC ACAGGATGGC CACCAGTGGA CTTTGTTCTT 4250 TCAGAACGGT AAGGTGAAAG TGTTCCAGGG AAACCAAGAT TCCTTTACAC 4300 CAGTGGTCAA CTCTCTGGAT CCTCCCCTGC TGACACGGTA CCTGCGGATC 4350 CATCCCCAGT CATGGGTGCA CCAGATTGCT CTGCGCATGG AGGTGCTTGG 4400 CTGCGAGGCC CAGGACCTGT ACTAA 4425

表 6: ARPE-19细胞中表达的FIX编码序列

SEQ ID NO.	序列名称	核苷酸序列
18	rhFIX Padua	ATGCAGCGCG TGAACATGAT CATGGCAGAA TCACCAGGCC TCATCACCAT 50 CTGCCTTTTA GGATATCTAC TCAGTGCTGA ATGTACAGTT TTTCTTGATC 100

		ATGAAAACGC CAACAAAATT CTGAATCGGC CAAAGAGGTA TAATTCAGGT 150 AAATTGGAAG AGTTTGTTCA AGGGAACCTT GAGAGAGAAT GTATGGAAGA 200 AAAGTGTAGT TTTGAAGAAG CACGAGAAGT TTTTGAAAAC ACTGAAAGAA 250 CAACTGAATT TTGGAAGCAG TATGTTGATG GAGATCAGTG TGAGTCCAAT 300 CCATGTTTAA ATGGCGGCAG TTGCAAGGAT GACATTAATT CCTATGAATG 350 TTGGTGTCCC TTTGGATTTG AAGGAAAGAA CTGTGAATTA GATGTAACAT 400 GTAACATTAA GAATGGCAGA TGCGAGCAGT TTTGTAAAAA TAGTGCTGAT 450 AACAAGGTGG TTTGCTCCTG TACTGAGGGA TATCGACTTG CAGAAAACCA 500 GAAGTCCTGT GAACCAGCAG TGCCATTTCC ATGTGGAAGA GTTTCTGTTT 550 CACAAACTTC TAAGCTCACC CGTGCTGAGA CTGTTTTTCC TGATGTGGAC 600 TATGTAAATT CTACTGAAGC TGAAACCATT TTGGATAACA TCACTCAAAG 650 CACCCAATCA TTTAATGACT TCACTCGGGT TGTTGGTGGA GAAGATGCCA 700 AACCAGGTCA ATTCCCTTGG CAGGTTGTTT TGAATGGTAA AGTTGATGCA 750 TTCTGTGGAG GCTCTATCGT TAATGAAAAA TGGATTGTAA CTGCTGCCCA 800 CTGTGTTGAA ACTGGTGTTA AAATTACAGT TGTCGCAGGT GAACATAATA 850 TTGAGGAGAC AGAACATACA GAGCAAAAGC GAAATGTGAT TCGAATTATT 900 CCTCACCACA ACTACAATGC AGCTATTAAT AAGTACAACC ATGACATTGC 950 CCTTCTGGAA CTGGACGAAC CCTTAGTGCT AAACAGCTAC GTTACACCTA 1000 TTTGCATTGC TGACAAGGAA TACACGAACA TCTTCCTCAA ATTTGGATCT 1050 GGCTATGTAA GTGGCTGGGG AAGAGTCTTC CACAAAGGGA GATCAGCTTT 1100 AGTTCTTCAG TACCTTAGAG TTCCACTTGT TGACCGAGCC ACATGTCTTC 1150 TGTCTACAAA GTTCACCATC TATAACAACA TGTTCTGTGC TGGCTTCCAT 1200 GAAGGAGGTA GAGATTCATG TCAAGGAGAT AGTGGGGGAC CCCATGTTAC 1250 TGAAGTGGAA GGGACCAGTT TCTTAACTGG AATTATTAGC TGGGGTGAAG 1300 AGTGTGCAAT GAAAGGCAAA TATGGAATAT ATACCAAGGT ATCCCGGTAT 1350 GTCAACTGGA TTAAGGAAAA AACAAAGCTC ACTTAA 1386
19	rhFIX Padua CO2	ATGCAGCGCG TGAACATGAT TATGGCCGAG TCTCCCGGCC TGATCACCAT 50 CTGTCTGCTG GGCTATCTGC TGAGCGCCGA GTGCACCGTG TTTCTGGATC 100 ACGAGAACGC CAACAAGATC CTGAACAGAC CCAAGCGGTA CAACAGCGGC 150 AAGCTGGAAG AGTTCGTGCA GGGCAACCTG GAACGCGAGT GCATGGAAGA 200 GAAGTGCAGC TTCGAAGAGG CCAGAGAGGT GTTCGAGAAC ACCGAGAGAA 250 CCACCGAGTT CTGGAAGCAG TACGTGGACG GCGATCAGTG CGAGAGCAAC 300 CCTTGTCTGA ATGGCGGCAG CTGCAAGGAC GACATCAACA GCTACGAGTG 350 CTGGTGCCCC TTCGGCTTCG AGGGCAAGAA TTGCGAGCTG GACGTGACCT 400 GCAACATCAA GAACGGCAGA TGCGAGCAGT TCTGCAAGAA CAGCGCCGAC 450 AACAAGGTCG TGTGCTCCTG CACAGAGGGC TACAGACTGG CCGAGAACCA 500 GAAGTCTTGC GAGCCCGCTG TGCCCTTTCC ATGTGGCAGA GTGTCTGTGT 550 CCCAGACCAG CAAGCTGACC AGAGCCGAGA CAGTGTTCCC CGACGTGGAC 600 TACGTGAACA GCACCGAGGC CGAGACAATC CTGGACAACA TCACCCAGAG 650 CACCCAGTCC TTCAACGACT TCACCAGAGT CGTCGGCGGC GAGGATGCTA 700 AGCCTGGACA GTTTCCTTGG CAAGTGGTGC TGAACGGCAA GGTGGACGCT 750 TTTTGTGGCG GCTCCATCGT GAACGAGAAG TGGATCGTGA CCGCCGCTCA 800 CTGTGTGGAA ACCGGCGTGA AGATTACAGT GGTGGCCGGC GAGCACAACA 850 TCGAGGAAAC AGAGCACACC GAGCAGAAAC GGAACGTGAT CAGAATCATC 900 CCTCACCACA ACTACAACGC CGCCATCAAC AAGTACAACC ACGATATCGC 950 CCTGCTGGAA CTGGACGAGC CCCTGGTCCT GAACTCTTAC GTGACCCCTA 1000 TCTGTATCGC CGACAAAGAG TACACCAACA TCTTTCTGAA GTTCGGCAGC 1050 GGCTACGTGT CCGGCTGGGG AAGAGTTTTC CACAAGGGCA GATCAGCCCT 1100 GGTGCTGCAG TACCTGAGAG TGCCCCTGGT GGATAGAGCC ACATGCCTGC 1150 TGAGCACCAA GTTCACCATC TACAACAACA TGTTCTGCGC CGGCTTCCAC 1200 GAAGGCGGCA GAGATTCTTG TCAAGGCGAT TCTGGCGGCC CTCACGTGAC 1250 AGAGGTTGAG GGCACAAGCT TTCTGACCGG CATCATCAGC TGGGGCGAAG 1300 AGTGTGCCAT GAAGGGGAAG TACGGCATCT ACACCAAGGT GTCCAGATAC 1350 GTGAACTGGA TCAAAGAAAA GACCAAGCTC ACCTGA 1386

20	rHFIX Padua CO3	ATGCAGCGCG TGAACATGAT CATGGCCGAG AGCCCCGGCC TGATCACCAT 50 CTGCCTGCTG GGCTACCTGC TGAGCGCCGA GTGCACCGTG TTCCTGGACC 100 ACGAGAACGC CAACAAGATC CTGAACCGCC CCAAGCGCTA CAACAGCGGC 150 AAGCTGGAGG AGTTCGTGCA GGGCAACCTG GAGCGCGAGT GCATGGAGGA 200 GAAGTGCAGC TTCGAGGAGG CCCGCGAGGT GTTCGAGAAC ACCGAGCGCA 250 CCACCGAGTT CTGGAAGCAG TACGTGGACG GCGACCAGTG CGAGAGCAAC 300 CCCTGCCTGA ACGGCGGCAG CTGCAAGGAC GACATCAACA GCTACGAGTG 350 CTGGTGCCCC TTCGGCTTCG AGGGCAAGAA CTGCGAGCTG GACGTGACCT 400 GCAACATCAA GAACGGCCGC TGCGAGCAGT TCTGCAAGAA CAGCGCCGAC 450 AACAAGGTGG TGTGCAGCTG CACCGAGGGC TACCGCCTGG CCGAGAACCA 500 GAAGAGCTGC GAGCCCGCCG TGCCCTTCCC CTGCGGCCGC GTGAGCGTGA 550 GCCAGACCAG CAAGCTGACC CGCGCCGAGA CTGTGTTCCC CGACGTGGAC 600 TACGTGAACA GCACCGAGGC CGAAACGATC CTGGACAACA TCACCCAGAG 650 CACCCAGAGC TTCAACGACT TCACCCGCGT GGTGGGCGGC GAGGACGCCA 700 AGCCCGGCCA GTTCCCCTGG CAGGTGGTGC TGAACGGCAA GGTGGACGCC 750 TTCTGCGGCG GCAGCATCGT GAACGAGAAG TGGATCGTGA CCGCCGCCCA 800 CTGCGTGGAA ACCGGCGTGA AGATCACCGT GGTGGCCGGC GAGCACAACA 850 TCGAGGAAAC CGAGCACACC GAGCAGAAGC GCAACGTGAT CCGCATCATC 900 CCCCACCACA ACTACAACGC CGCCATCAAC AAGTACAACC ACGACATCGC 950 CCTGCTGGAG CTGGACGAGC CCCTGGTGCT GAACAGCTAC GTGACCCCCA 1000 TCTGCATCGC CGACAAGGAG TACACCAACA TCTTCCTGAA GTTCGGCAGC 1050 GGCTACGTGA GCGGCTGGGG CCGCGTGTTC CACAAGGGCC GCAGCGCCCT 1100 GGTGCTGCAG TACCTGCGCG TGCCCCTGGT GGACCGCGCC ACCTGCCTGC 1150 TGAGCACCAA GTTCACCATC TACAACAACA TGTTCTGCGC CGGCTTCCAC 1200 GAGGGCGGCC GCGACAGCTG CCAGGGCGAC AGCGGCGGCC CCCACGTGAC 1250 CGAGGTGGAG GGCACCAGCT TCCTGACCGG CATCATCAGC TGGGGCGAGG 1300 AGTGCGCCAT GAAGGGCAAG TACGGCATCT ACACCAAGGT GAGCCGCTAC 1350 GTGAACTGGA TCAAGGAGAA AACCAAGCTG ACCTAA 1386
21	rhFIX Padua CO5	ATGCAGCGGG TGAACATGAT CATGGCCGAG AGCCCCGGGC TGATCACCAT 50 CTGTCTGCTG GGGTACCTGC TGTCCGCCGA GTGCACCGTG TTCCTGGACC 100 ACGAGAACGC CAACAAGATC CTGAATCGCC CCAAGAGATA CAATTCCGGA 150 AAGCTGGAAG AGTTTGTGCA GGGCAACCTG GAGAGAGAGT GCATGGAAGA 200 GAAGTGCTCC TTCGAGGAGG CCCGGGAGGT GTTCGAGAAT ACTGAACGGA 250 CAACAGAGTT CTGGAAGCAG TATGTGGACG GCGACCAGTG TGAGAGCAAC 300 CCCTGTCTGA ACGGCGGGAG CTGCAAGGAC GACATTAATT CCTACGAATG 350 CTGGTGCCCA TTCGGCTTCG AGGGCAAGAA CTGCGAGCTG GACGTGACCT 400 GCAACATCAA GAACGGCCGC TGCGAGCAGT TTTGCAAGAA CTCCGCCGAC 450 AACAAGGTGG TGTGTTCTTG CACCGAGGGC TACCGCCTGG CCGAAAACCA 500 GAAGAGCTGT GAGCCTGCCG TGCCCTTCCC CTGCGGCCGG GTGTCTGTGT 550 CCCAGACCTC CAAGCTGACC AGAGCCGAAA CCGTGTTTCC AGATGTGGAC 600 TACGTGAATA GCACCGAGGC CGAGACTATC CTCGACAACA TCACCCAGTC 650 CACCCAGAGC TTTAACGACT TCACCCGCGT GGTGGGCGGC GAGGACGCCA 700 AGCCCGGCCA GTTCCCCTGG CAGGTGGTGC TCAACGGAAA GGTGGACGCC 750 TTCTGCGGAG GCAGCATCGT GAATGAAAAG TGGATCGTGA CAGCCGCCCA 800 CTGCGTGGAA ACAGGGGTGA AGATCACCGT GGTGGCTGGA GAGCACAACA 850 TCGAGGAGAC AGAGCACACC GAACAGAAGA GGAATGTGAT CAGGATCATC 900 CCCCACCACA ACTATAATGC CGCCATCAAC AAGTACAACC ACGACATCGC 950 CCTGCTGGAG CTGGATGAGC CCCTGGTGCT CAACAGCTAC GTGACCCCCA 1000 TCTGCATCGC TGACAAGGAG TACACCAACA TCTTCCTGAA GTTCGGCTCC 1050 GGCTACGTGT CTGGCTGGGG CCGCGTGTTC CACAAGGGAA GAAGCGCCCT 1100 CGTGCTGCAG TACCTGCGGG TGCCACTGGT GGACAGGGCC ACCTGCCTGC 1150 TGAGCACTAA GTTCACCATT TACAACAACA TGTTCTGCGC CGGCTTCCAC 1200 GAGGGCGGCA GGGACTCCTG CCAGGGCGAC AGCGGCGGCC CCCATGTGAC 1250 CGAGGTGGAG GGCACCTCCT TTCTGACTGG CATTATCTCC TGGGGCGAGG 1300 AGTGCGCCAT GAAGGGGAAG TATGGCATCT ACACCAAGGT GTCCCGCTAC 1350

		GTGAACTGGA TTAAGGAGAA AACCAAGCTG ACCTGA	1386

表 7:表达载体序列

SEQ ID NO.	组分	核苷酸序列
22	5′ ITR	TTAACCCTAG AAAGATAGTC TGCGTAAAAT TGACGCATGC ATTCTTGAAA TATTGCTCTC TCTTTCTAAA TAGCGCGAAT CCGTCGCTGT GCATTTAGGA CATCTCAGTC GCCGCTTGGA GCTCCCGTGA GGCGTGCTTG TCAATGCGGT AAGTGTCACT GATTTTGAAC TATAACGACC GCGTGAGTCA AAATGACGCA TGATTATCTT TTACGTGACT TTTAAGATTT AACTCATACG ATAATTATAT TGTTATTTCA TGTTCTACTT ACGTGATAAC TTATTATATA TATATTTTCT TGTTATAGAT ATC
23	CAG 启动子	CTCGACATTG ATTATTGACT AGTTATTAAT AGTAATCAAT TACGGGGTCA TTAGTTCATA GCCCATATAT GGAGTTCCGC GTTACATAAC TTACGGTAAA TGGCCCGCCT GGCTGACCGC CCAACGACCC CCGCCCATTG ACGTCAATAA TGACGTATGT TCCCATAGTA ACGCCAATAG GGACTTTCCA TTGACGTCAA TGGGTGGAGT ATTTACGGTA AACTGCCCAC TTGGCAGTAC ATCAAGTGTA TCATATGCCA AGTACGCCCC CTATTGACGT CAATGACGGT AAATGGCCCG CCTGGCATTA TGCCCAGTAC ATGACCTTAT GGGACTTTCC TACTTGGCAG TACATCTACG TATTAGTCAT CGCTATTACC ATGGTCGAGG TGAGCCCCAC GTTCTGCTTC ACTCTCCCCA TCTCCCCCCC CTCCCCACCC CCAATTTTGT ATTTATTTAT TTTTTAATTA TTTTGTGCAG CGATGGGGGC GGGGGGGGGG GGGGGGCGCG CGCCAGGCGG GGCGGGGCGG GGCGAGGGGC GGGGCGGGGC GAGGCGGAGA GGTGCGGCGG CAGCCAATCA GAGCGGCGCG CTCCGAAAGT TTCCTTTTAT GGCGAGGCGG CGGCGGCGGC GGCCCTATAA AAAGCGAAGC GCGCGGCGGG CGGGAGTCGC TGCGCGCTGC CTTCGCCCCG TGCCCCGCTC CGCCGCCGCC TCGCGCCGCC CGCCCCGGCT CTGACTGACC GCGTTACTCC CACAGGTGAG CGGGCGGGAC GGCCCTTCTC CTCCGGGCTG TAATTAGCGC TTGGTTTAAT GACGGCTTGT TTCTTTTCTG TGGCTGCGTG AAAGCCTTGA GGGGCTCCGG GAGGGCCCTT TGTGCGGGGG GAGCGGCTCG GGGGGTGCGT GCGTGTGTGT GTGCGTGGGG AGCGCCGCGT GCGGCTCCGC GCTGCCCGGC GGCTGTGAGC GCTGCGGGCG CGGCGCGGGG CTTTGTGCGC TCCGCAGTGT GCGCGAGGGG AGCGCGGCCG GGGGCGGTGC CCCGCGGTGC GGGGGGGGCT GCGAGGGGAA CAAAGGCTGC GTGCGGGGTG TGTGCGTGGG GGGGTGAGCA GGGGGTGTGG GCGCGTCGGT CGGGCTGCAA CCCCCCCTGC ACCCCCCTCC CCGAGTTGCT GAGCACGGCC CGGCTTCGGG TGCGGGGCTC CGTACGGGGC GTGGCGCGGG GCTCGCCGTG CCGGGCGGGG GGTGGCGGCA GGTGGGGGTG CCGGGCGGGG CGGGGCCGCC TCGGGCCGGG GAGGGCTCGG GGGAGGGGCG CGGCGGCCCC CGGAGCGCCG GCGGCTGTCG AGGCGCGGCG AGCCGCAGCC ATTGCCTTTT ATGGTAATCG TGCGAGAGGG CGCAGGGACT TCCTTTGTCC CAAATCTGTG CGGAGCCGAA ATCTGGGAGG CGCCGCCGCA CCCCCTCTAG CGGGCGCGGG GCGAAGCGGT GCGGCGCCGG CAGGAAGGAA ATGGGCGGGG AGGGCCTTCG TGCGTCGCCG CGCCGCCGTC CCCTTCTCCC TCTCCAGCCT CGGGGCTGTC CGCGGGGGGA CGGCTGCCTT CGGGGGGGAC GGGGCAGGGC GGGGTTCGGC TTCTGGCGTG TGACCGGCGG CTCTAGAGCC TCTGCTAACC ATGTTCATGC CTTCTTCTTT TTCCTACAGC TCCTGGGCAA CGTGCTGGTT ATTGTGCTGT CTCATCATTT TGGCAAAGAA TTG
24	rBG pA	TCCTCAGGTG CAGGCTGCCT ATCAGAAGGT GGTGGCTGGT GTGGCCAATG CCCTGGCTCA CAAATACCAC TGAGATCTTT TTCCCTCTGC CAAAAATTAT GGGGACATCA TGAAGCCCCT TGAGCATCTG ACTTCTGGCT AATAAAGGAA ATTTATTTTC ATTGCAATAG TGTGTTGGAA TTTTTTGTGT CTCTCACTCG

		GAAGGACATA TGGGAGGGCA AATCATTTAA AACATCAGAA TGAGTATTTG GTTTAGAGTT TGGCAACATA TGCCCATATG CTGGCTGCCA TGAACAAAGG TTGGCTATAA AGAGGTCATC AGTATATGAA ACAGCCCCCT GCTGTCCATT CCTTATTCCA TAGAAAAGCC TTGACTTGAG GTTAGATTTT TTTTATATTT TGTTTTGTGT TATTTTTTTC TTTAACATCC CTAAAATTTT CCTTACATGT TTTACTAGCC AGATTTTTCC TCCTCTCCTG ACTACTCCCA GTCATAGCTG TCCCTCTTCT CTTATGGAGA TC
25	3′ ITR	TTAACCCTAG AAAGATAATC ATATTGTGAC GTACGTTAAA GATAATCATG CGTAAAATTG ACGCATGTGT TTTATCGGTC TGTATATCGA GGTTTATTTA TTAATTTGAA TAGATATTAA GTTTTATTAT ATTTACACTT ACATACTAAT AATAAATTCA ACAAACAATT TATTTATGTT TATTTATTTA TTAAAAAAAA ACAAAAACTC AAAATTTCTT CTATAAAGTA ACAAA
26	载体	TTAACCCTAG AAAGATAGTC TGCGTAAAAT TGACGCATGC ATTCTTGAAA TATTGCTCTC TCTTTCTAAA TAGCGCGAAT CCGTCGCTGT GCATTTAGGA CATCTCAGTC GCCGCTTGGA GCTCCCGTGA GGCGTGCTTG TCAATGCGGT AAGTGTCACT GATTTTGAAC TATAACGACC GCGTGAGTCA AAATGACGCA TGATTATCTT TTACGTGACT TTTAAGATTT AACTCATACG ATAATTATAT TGTTATTTCA TGTTCTACTT ACGTGATAAC TTATTATATA TATATTTTCT TGTTATAGAT ATCATCAACT TTGTATAGAA AAGTTGCTCG ACATTGATTA TTGACTAGTT ATTAATAGTA ATCAATTACG GGGTCATTAG TTCATAGCCC ATATATGGAG TTCCGCGTTA CATAACTTAC GGTAAATGGC CCGCCTGGCT GACCGCCCAA CGACCCCCGC CCATTGACGT CAATAATGAC GTATGTTCCC ATAGTAACGC CAATAGGGAC TTTCCATTGA CGTCAATGGG TGGAGTATTT ACGGTAAACT GCCCACTTGG CAGTACATCA AGTGTATCAT ATGCCAAGTA CGCCCCCTAT TGACGTCAAT GACGGTAAAT GGCCCGCCTG GCATTATGCC CAGTACATGA CCTTATGGGA CTTTCCTACT TGGCAGTACA TCTACGTATT AGTCATCGCT ATTACCATGG TCGAGGTGAG CCCCACGTTC TGCTTCACTC TCCCCATCTC CCCCCCCTCC CCACCCCCAA TTTTGTATTT ATTTATTTTT TAATTATTTT GTGCAGCGAT GGGGGCGGGG GGGGGGGGGG GGCGCGCGCC AGGCGGGGCG GGGCGGGGCG AGGGGCGGGG CGGGGCGAGG CGGAGAGGTG CGGCGGCAGC CAATCAGAGC GGCGCGCTCC GAAAGTTTCC TTTTATGGCG AGGCGGCGGC GGCGGCGGCC CTATAAAAAG CGAAGCGCGC GGCGGGCGGG AGTCGCTGCG CGCTGCCTTC GCCCCGTGCC CCGCTCCGCC GCCGCCTCGC GCCGCCCGCC CCGGCTCTGA CTGACCGCGT TACTCCCACA GGTGAGCGGG CGGGACGGCC CTTCTCCTCC GGGCTGTAAT TAGCGCTTGG TTTAATGACG GCTTGTTTCT TTTCTGTGGC TGCGTGAAAG CCTTGAGGGG CTCCGGGAGG GCCCTTTGTG CGGGGGGAGC GGCTCGGGGG GTGCGTGCGT GTGTGTGTGC GTGGGGAGCG CCGCGTGCGG CTCCGCGCTG CCCGGCGGCT GTGAGCGCTG CGGGCGCGGC GCGGGGCTTT GTGCGCTCCG CAGTGTGCGC GAGGGGAGCG CGGCCGGGGG CGGTGCCCCG CGGTGCGGGG GGGGCTGCGA GGGGAACAAA GGCTGCGTGC GGGGTGTGTG CGTGGGGGGG TGAGCAGGGG GTGTGGGCGC GTCGGTCGGG CTGCAACCCC CCCTGCACCC CCCTCCCCGA GTTGCTGAGC ACGGCCCGGC TTCGGGTGCG GGGCTCCGTA CGGGGCGTGG CGCGGGGCTC GCCGTGCCGG GCGGGGGGTG GCGGCAGGTG GGGGTGCCGG GCGGGGCGGG GCCGCCTCGG GCCGGGGAGG GCTCGGGGGA GGGGCGCGGC GGCCCCCGGA GCGCCGGCGG CTGTCGAGGC GCGGCGAGCC GCAGCCATTG CCTTTTATGG TAATCGTGCG AGAGGGCGCA GGGACTTCCT TTGTCCCAAA TCTGTGCGGA GCCGAAATCT GGGAGGCGCC GCCGCACCCC CTCTAGCGGG CGCGGGGCGA AGCGGTGCGG CGCCGGCAGG AAGGAAATGG GCGGGGAGGG CCTTCGTGCG TCGCCGCGCC GCCGTCCCCT TCTCCCTCTC CAGCCTCGGG GCTGTCCGCG GGGGGACGGC TGCCTTCGGG GGGGACGGGG CAGGGCGGGG TTCGGCTTCT GGCGTGTGAC CGGCGGCTCT AGAGCCTCTG CTAACCATGT TCATGCCTTC TTCTTTTTCC TACAGCTCCT GGGCAACGTG CTGGTTATTG TGCTGTCTCA TCATTTTGGC AAAGAATTGC AAGTTTGTAC AAAAAAGCAG GCTGCCACCG

		AATTCGCGGC CGCTAAACCC AGCTTTCTTG TACAAAGTGG CAACTTTATT ATACATAGTT GATCCTCAGG TGCAGGCTGC CTATCAGAAG GTGGTGGCTG GTGTGGCCAA TGCCCTGGCT CACAAATACC ACTGAGATCT TTTTCCCTCT GCCAAAAATT ATGGGGACAT CATGAAGCCC CTTGAGCATC TGACTTCTGG CTAATAAAGG AAATTTATTT TCATTGCAAT AGTGTGTTGG AATTTTTTGT GTCTCTCACT CGGAAGGACA TATGGGAGGG CAAATCATTT AAAACATCAG AATGAGTATT TGGTTTAGAG TTTGGCAACA TATGCCCATA TGCTGGCTGC CATGAACAAA GGTTGGCTAT AAAGAGGTCA TCAGTATATG AAACAGCCCC CTGCTGTCCA TTCCTTATTC CATAGAAAAG CCTTGACTTG AGGTTAGATT TTTTTTATAT TTTGTTTTGT GTTATTTTTT TCTTTAACAT CCCTAAAATT TTCCTTACAT GTTTTACTAG CCAGATTTTT CCTCCTCTCC TGACTACTCC CAGTCATAGC TGTCCCTCTT CTCTTATGGA GATCCCTCGA CCTGCAGCCC AAGCTTGGAT CCCTCGAGTT AATTAACGAG AGCATAATAT TGATATGTGC CAAAGTTGTT TCTGACTGAC TAATAAGTAT AATTTGTTTC TATTATGTAT AGGTTAAGCT AATTACTTAT TTTATAATAC AACATGACTG TTTTTAAAGT ACAAAATAAG TTTATTTTTG TAAAAGAGAG AATGTTTAAA AGTTTTGTTA CTTTATAGAA GAAATTTTGA GTTTTTGTTT TTTTTTAATA AATAAATAAA CATAAATAAA TTGTTTGTTG AATTTATTAT TAGTATGTAA GTGTAAATAT AATAAAACTT AATATCTATT CAAATTAATA AATAAACCTC GATATACAGA CCGATAAAAC ACATGCGTCA ATTTTACGCA TGATTATCTT TAACGTACGT CACAATATGA TTATCTTTCT AGGGTTAAAT AATAGTTTCT AATTTTTTTA TTATTCAGCC TGCTGTCGTG AATACCGAGC TCCAATTCGC CCTATAGTGA GTCGTATTAC AATTCACTGG CCGTCGTTTT ACAACGTCGT GACTGGGAAA ACCCTGGCGT TACCCAACTT AATCGCCTTG CAGCACATCC CCCTTTCGCC AGCTGGCGTA ATAGCGAAGA GGCCCGCACC GATCGCCCTT CCCAACAGTT GCGCAGCCTG AATGGCGAAT GGGACGCGCC CTGTAGCGGC GCATTAAGCG CGGCGGGTGT GGTGGTTACG CGCAGCGTGA CCGCTACACT TGCCAGCGCC CTAGCGCCCG CTCCTTTCGC TTTCTTCCCT TCCTTTCTCG CCACGTTCGC CGGCTTTCCC CGTCAAGCTC TAAATCGGGG GCTCCCTTTA GGGTTCCGAT TTAGTGCTTT ACGGCACCTC GACCCCAAAA AACTTGATTA GGGTGATGGT TCACGTAGTG GGCCATCGCC CTGATAGACG GTTTTTCGCC CTTTGACGTT GGAGTCCACG TTCTTTAATA GTGGACTCTT GTTCCAAACT GGAACAACAC TCAACCCTAT CTCGGTCTAT TCTTTTGATT TATAAGGGAT TTTGCCGATT TCGGCCTATT GGTTAAAAAA TGAGCTGATT TAACAAAAAT TTAACGCGAA TTTTAACAAA ATATTAACGC TTACAATTTA GGTGGCACTT TTCGGGGAAA TGTGCGCGGA ACCCCTATTT GTTTATTTTT CTAAATACAT TCAAATATGT ATCCGCTCAT GAGACAATAA CCCTGATAAA TGCTTCAATA ATATTGAAAA AGGAAGAGTA TGAGTATTCA ACATTTCCGT GTCGCCCTTA TTCCCTTTTT TGCGGCATTT TGCCTTCCTG TTTTTGCTCA CCCAGAAACG CTGGTGAAAG TAAAAGATGC TGAAGATCAG TTGGGTGCAC GAGTGGGTTA CATCGAACTG GATCTCAACA GCGGTAAGAT CCTTGAGAGT TTTCGCCCCG AAGAACGTTT TCCAATGATG AGCACTTTTA AAGTTCTGCT ATGTGGCGCG GTATTATCCC GTATTGACGC CGGGCAAGAG CAACTCGGTC GCCGCATACA CTATTCTCAG AATGACTTGG TTGAGTACTC ACCAGTCACA GAAAAGCATC TTACGGATGG CATGACAGTA AGAGAATTAT GCAGTGCTGC CATAACCATG AGTGATAACA CTGCGGCCAA CTTACTTCTG ACAACGATCG GAGGACCGAA GGAGCTAACC GCTTTTTTGC ACAACATGGG GGATCATGTA ACTCGCCTTG ATCGTTGGGA ACCGGAGCTG AATGAAGCCA TACCAAACGA CGAGCGTGAC ACCACGATGC CTGTAGCAAT GGCAACAACG TTGCGCAAAC TATTAACTGG CGAACTACTT ACTCTAGCTT CCCGGCAACA ATTAATAGAC TGGATGGAGG CGGATAAAGT TGCAGGACCA CTTCTGCGCT CGGCCCTTCC GGCTGGCTGG TTTATTGCTG ATAAATCTGG AGCCGGTGAG CGTGGGTCTC GCGGTATCAT TGCAGCACTG GGGCCAGATG GTAAGCCCTC CCGTATCGTA GTTATCTACA CGACGGGGAG TCAGGCAACT ATGGATGAAC GAAATAGACA GATCGCTGAG ATAGGTGCCT

		CACTGATTAA GCATTGGTAA CTGTCAGACC AAGTTTACTC ATATATACTT TAGATTGATT TAAAACTTCA TTTTTAATTT AAAAGGATCT AGGTGAAGAT CCTTTTTGAT AATCTCATGA CCAAAATCCC TTAACGTGAG TTTTCGTTCC ACTGAGCGTC AGACCCCGTA GAAAAGATCA AAGGATCTTC TTGAGATCCT TTTTTTCTGC GCGTAATCTG CTGCTTGCAA ACAAAAAAAC CACCGCTACC AGCGGTGGTT TGTTTGCCGG ATCAAGAGCT ACCAACTCTT TTTCCGAAGG TAACTGGCTT CAGCAGAGCG CAGATACCAA ATACTGTTCT TCTAGTGTAG CCGTAGTTAG GCCACCACTT CAAGAACTCT GTAGCACCGC CTACATACCT CGCTCTGCTA ATCCTGTTAC CAGTGGCTGC TGCCAGTGGC GATAAGTCGT GTCTTACCGG GTTGGACTCA AGACGATAGT TACCGGATAA GGCGCAGCGG TCGGGCTGAA CGGGGGGTTC GTGCACACAG CCCAGCTTGG AGCGAACGAC CTACACCGAA CTGAGATACC TACAGCGTGA GCTATGAGAA AGCGCCACGC TTCCCGAAGA GAGAAAGGCG GACAGGTATC CGGTAAGCGG CAGGGTCGGA ACAGGAGAGC GCACGAGGGA GCTTCCAGGG GGAAACGCCT GGTATCTTTA TAGTCCTGTC GGGTTTCGCC ACCTCTGACT TGAGCGTCGA TTTTTGTGAT GCTCGTCAGG GGGGCGGAGC CTATGGAAAA ACGCCAGCAA CGCGGCCTTT TTACGGTTCC TGGCCTTTTG CTGGCCTTTT GCTCACATGT TCTTTCCTGC GTTATCCCCT GATTCTGTGG ATAACCGTAT TACCGCCTTT GAGTGAGCTG ATACCGCTCG CCGCAGCCGA ACGACCGAGC GCAGCGAGTC AGTGAGCGAG GAAGCGGAAG AGCGCCCAAT ACGCAAACCG CCTCTCCCCG CGCGTTGGCC GATTCATTAA TGCAGCTGGC ACGACAGGTT TCCCGACTGG AAAGCGGGCA GTGAGCGCAA CGCAATTAAT GTGAGTTAGC TCACTCATTA GGCACCCCAG GCTTTACACT TTATGCTTCC GGCTCGTATG TTGTGTGGAA TTGTGAGCGG ATAACAATTT CACACAGGAA ACAGCTATGA CCATGATTAC GCCAAGCTCG AAATTAACCC TCACTAAAGG GAACAAAAGC TGGTACCTCG CGCGACTTGG TTTGCCATTC TTTAGCGCGC GTCGCGTCAC ACAGCTTGGC CACAATGTGG TTTTTGTCAA ACGAAGATTC TATGACGTGT TTAAAGTTTA GGTCGAGTAA AGCGCAAATC TTTT
27	对于 rhScFVIIIBDD CO6的转录单位	CTCGACATTG ATTATTGACT AGTTATTAAT AGTAATCAAT TACGGGGTCA TTAGTTCATA GCCCATATAT GGAGTTCCGC GTTACATAAC TTACGGTAAA TGGCCCGCCT GGCTGACCGC CCAACGACCC CCGCCCATTG ACGTCAATAA TGACGTATGT TCCCATAGTA ACGCCAATAG GGACTTTCCA TTGACGTCAA TGGGTGGAGT ATTTACGGTA AACTGCCCAC TTGGCAGTAC ATCAAGTGTA TCATATGCCA AGTACGCCCC CTATTGACGT CAATGACGGT AAATGGCCCG CCTGGCATTA TGCCCAGTAC ATGACCTTAT GGGACTTTCC TACTTGGCAG TACATCTACG TATTAGTCAT CGCTATTACC ATGGTCGAGG TGAGCCCCAC GTTCTGCTTC ACTCTCCCCA TCTCCCCCCC CTCCCCACCC CCAATTTTGT ATTTATTTAT TTTTTAATTA TTTTGTGCAG CGATGGGGGC GGGGGGGGGG GGGGGGCGCG CGCCAGGCGG GGCGGGGCGG GGCGAGGGGC GGGGCGGGGC GAGGCGGAGA GGTGCGGCGG CAGCCAATCA GAGCGGCGCG CTCCGAAAGT TTCCTTTTAT GGCGAGGCGG CGGCGGCGGC GGCCCTATAA AAAGCGAAGC GCGCGGCGGG CGGGAGTCGC TGCGCGCTGC CTTCGCCCCG TGCCCCGCTC CGCCGCCGCC TCGCGCCGCC CGCCCCGGCT CTGACTGACC GCGTTACTCC CACAGGTGAG CGGGCGGGAC GGCCCTTCTC CTCCGGGCTG TAATTAGCGC TTGGTTTAAT GACGGCTTGT TTCTTTTCTG TGGCTGCGTG AAAGCCTTGA GGGGCTCCGG GAGGGCCCTT TGTGCGGGGG GAGCGGCTCG GGGGGTGCGT GCGTGTGTGT GTGCGTGGGG AGCGCCGCGT GCGGCTCCGC GCTGCCCGGC GGCTGTGAGC GCTGCGGGCG CGGCGCGGGG CTTTGTGCGC TCCGCAGTGT GCGCGAGGGG AGCGCGGCCG GGGGCGGTGC CCCGCGGTGC GGGGGGGGCT GCGAGGGGAA CAAAGGCTGC GTGCGGGGTG TGTGCGTGGG GGGGTGAGCA GGGGGTGTGG GCGCGTCGGT CGGGCTGCAA CCCCCCCTGC ACCCCCCTCC CCGAGTTGCT GAGCACGGCC CGGCTTCGGG TGCGGGGCTC CGTACGGGGC GTGGCGCGGG GCTCGCCGTG CCGGGCGGGG GGTGGCGGCA GGTGGGGGTG CCGGGCGGGG CGGGGCCGCC TCGGGCCGGG GAGGGCTCGG GGGAGGGGCG CGGCGGCCCC CGGAGCGCCG GCGGCTGTCG AGGCGCGGCG AGCCGCAGCC

		ATTGCCTTTT ATGGTAATCG TGCGAGAGGG CGCAGGGACT TCCTTTGTCC CAAATCTGTG CGGAGCCGAA ATCTGGGAGG CGCCGCCGCA CCCCCTCTAG CGGGCGCGGG GCGAAGCGGT GCGGCGCCGG CAGGAAGGAA ATGGGCGGGG AGGGCCTTCG TGCGTCGCCG CGCCGCCGTC CCCTTCTCCC TCTCCAGCCT CGGGGCTGTC CGCGGGGGGA CGGCTGCCTT CGGGGGGGAC GGGGCAGGGC GGGGTTCGGC TTCTGGCGTG TGACCGGCGG CTCTAGAGCC TCTGCTAACC ATGTTCATGC CTTCTTCTTT TTCCTACAGC TCCTGGGCAA CGTGCTGGTT ATTGTGCTGT CTCATCATTT TGGCAAAGAA TTGCAAGTTT GTACAAAAAA GCAGGCTGCC ACCATGCAGA TTGAGCTGAG CACCTGTTTC TTCCTGTGCC TGCTGAGATT TTGCTTCTCA GCTACCCGCA GGTACTACCT GGGAGCCGTT GAGCTGTCCT GGGATTACAT GCAGTCAGAT CTGGGGGAGC TGCCTGTGGA CGCTCGGTTT CCCCCCAGAG TGCCAAAGTC CTTTCCCTTC AACACCAGCG TGGTGTACAA AAAGACACTT TTTGTTGAAT TTACTGACCA CTTGTTCAAC ATCGCCAAGC CACGACCCCC ATGGATGGGC CTGCTGGGGC CAACCATTCA GGCAGAGGTT TACGACACAG TCGTGATCAC ACTGAAGAAC ATGGCCTCCC ATCCAGTGTC TCTGCACGCC GTCGGTGTGT CCTACTGGAA AGCATCCGAG GGCGCCGAGT ATGACGACCA GACCAGCCAG AGAGAGAAAG AGGACGACAA AGTGTTCCCT GGAGGCAGCC ACACCTACGT GTGGCAGGTG TTGAAGGAAA ATGGGCCCAT GGCCAGTGAC CCTTTGTGTC TGACTTACTC ATACCTGTCT CATGTGGATC TAGTCAAGGA CCTGAATTCT GGACTGATTG GGGCACTGCT TGTGTGCCGC GAAGGCAGCC TGGCCAAAGA AAAGACACAG ACCCTTCACA AGTTCATCCT GCTGTTCGCC GTGTTCGACG AAGGCAAATC CTGGCACTCA GAAACCAAAA ACTCACTGAT GCAGGACCGG GATGCCGCCT CTGCCCGCGC ATGGCCAAAA ATGCACACCG TCAACGGCTA TGTCAATAGA AGTTTGCCCG GCCTCATTGG ATGTCACAGG AAAAGCGTCT ATTGGCATGT AATCGGGATG GGAACCACAC CTGAGGTCCA CAGCATATTT CTGGAAGGCC ACACATTTCT GGTGAGAAAT CATCGCCAGG CTTCCCTGGA AATTTCCCCC ATCACCTTCT TGACCGCCCA GACACTGCTC ATGGATCTTG GGCAGTTTCT GCTGTTTTGT CATATTTCTT CTCACCAACA CGACGGAATG GAGGCCTACG TTAAGGTCGA TAGTTGCCCT GAAGAACCTC AGCTGAGGAT GAAGAACAAC GAGGAAGCCG AGGACTACGA TGACGATTTG ACCGATTCCG AAATGGACGT GGTGCGCTTT GATGATGACA ATTCTCCATC CTTCATTCAG ATTAGATCCG TCGCCAAGAA GCACCCCAAG ACCTGGGTGC ACTACATTGC AGCCGAGGAG GAGGATTGGG ACTACGCCCC CCTGGTGCTG GCACCCGACG ACCGAAGCTA CAAATCTCAG TACCTGAACA ATGGTCCACA ACGGATCGGC AGGAAGTACA AGAAAGTGCG GTTCATGGCC TATACAGACG AAACCTTCAA AACCAGGGAG GCTATCCAGC ACGAGTCTGG GATTCTGGGA CCACTCCTGT ACGGCGAAGT GGGCGACACC TTGTTAATTA TCTTCAAGAA CCAGGCTAGT AGACCTTATA ACATTTATCC CCACGGCATT ACCGATGTGC GGCCTCTCTA CTCTAGGCGG CTTCCAAAGG GGGTGAAACA CCTGAAGGAC TTTCCCATCC TCCCTGGCGA AATCTTTAAG TATAAGTGGA CAGTGACCGT GGAGGATGGA CCAACCAAGA GCGACCCCAG GTGCCTGACA CGCTATTATT CAAGCTTCGT GAATATGGAA AGGGACCTCG CATCTGGCTT GATCGGCCCT CTGCTGATAT GTTACAAGGA AAGCGTCGAT CAGAGAGGAA ATCAGATCAT GTCAGACAAA AGGAATGTGA TCCTGTTCTC CGTCTTCGAT GAAAACAGGA GCTGGTATCT GACAGAGAAC ATCCAGAGAT TCCTGCCAAA TCCCGCCGGC GTCCAGCTGG AGGACCCGGA GTTTCAGGCA TCTAACATCA TGCATTCCAT TAATGGTTAC GTGTTCGACT CCCTGCAGCT GAGCGTGTGC CTCCACGAGG TGGCCTACTG GTACATCTTG AGCATCGGCG CCCAGACCGA CTTTCTGAGC GTCTTTTTCT CCGGGTATAC TTTCAAACAT AAGATGGTGT ACGAAGATAC TCTGACGCTG TTCCCTTTCT CTGGGGAGAC TGTGTTTATG TCTATGGAGA ACCCTGGACT GTGGATTCTC GGATGCCACA ACAGTGACTT TCGTAATAGA GGGATGACTG CACTGCTGAA GGTGTCCAGC TGTGATAAAA ATACTGGCGA CTACTACGAA GATAGCTATG AGGATATCTC AGCATACCTG CTGAGCAAGA ATAACGCCAT CGAGCCCCGA AGCTTCTCAC AGAATCCCCC TGTCCTCAAG GCCCACCAGG CGGAGATCAC AAGGACCACA

		CTCCAGTCCG ACCAGGAGGA GATTGACTAC GATGACACGA TTTCTGTGGA GATGAAAAAA GAGGACTTTG ACATCTACGA TGAGGATGAA AACCAGAGCC CTAGGTCGTT CCAGAAGAAA ACAAGGCACT ACTTCATTGC CGCCGTGGAG AGACTGTGGG ACTACGGAAT GAGTAGTTCC CCACACGTGT TGCGGAACAG AGCCCAGAGT GGGTCCGTCC CACAGTTCAA GAAGGTTGTT TTCCAGGAGT TCACAGATGG CTCCTTCACT CAGCCACTGT ATCGCGGCGA GCTGAATGAG CACTTGGGCT TATTGGGCCC CTACATTCGC GCAGAAGTCG AAGATAATAT TATGGTGACC TTCCGCAACC AGGCCAGCCG GCCTTACTCA TTCTACTCCT CTCTCATCTC TTATGAGGAG GATCAGCGCC AGGGCGCCGA ACCCCGGAAG AACTTTGTGA AGCCCAATGA AACCAAAACT TACTTTTGGA AGGTGCAGCA CCATATGGCG CCGACGAAAG ACGAATTTGA CTGCAAAGCC TGGGCCTACT TCAGCGACGT CGACTTGGAG AAGGACGTCC ACAGCGGCCT GATTGGCCCT TTGTTGGTCT GCCATACCAA TACACTCAAC CCTGCCCACG GGAGGCAGGT GACCGTGCAG GAGTTTGCCT TGTTCTTCAC CATCTTCGAC GAAACCAAGA GCTGGTACTT CACAGAGAAC ATGGAGAGGA ACTGCAGAGC ACCCTGTAAC ATCCAGATGG AGGACCCTAC TTTCAAGGAA AATTACAGGT TCCATGCCAT TAATGGCTAC ATCATGGATA CCCTCCCCGG GCTTGTGATG GCTCAGGACC AGCGCATCCG CTGGTACCTG CTCTCAATGG GCTCCAACGA GAACATTCAT AGCATCCACT TTAGTGGCCA CGTGTTTACC GTGCGCAAGA AGGAGGAGTA CAAGATGGCA CTGTACAACC TGTACCCTGG CGTGTTTGAG ACAGTGGAGA TGCTGCCATC CAAGGCCGGC ATCTGGCGCG TGGAGTGCCT CATTGGGGAG CACCTCCATG CTGGCATGTC TACACTGTTC CTGGTGTACA GCAACAAGTG TCAGACTCCA CTCGGAATGG CCTCCGGGCA TATCCGCGAT TTTCAGATCA CGGCCTCTGG CCAGTATGGC CAATGGGCTC CCAAGCTGGC CAGGCTGCAC TACAGTGGGA GTATCAACGC TTGGAGCACC AAGGAGCCTT TCTCCTGGAT CAAGGTGGAC CTGCTTGCCC CCATGATTAT TCACGGCATT AAGACACAGG GGGCCAGGCA GAAATTCTCC TCCCTGTACA TCTCCCAGTT CATCATCATG TACAGTCTGG ACGGCAAAAA GTGGCAGACC TACCGCGGGA ACAGTACCGG GACATTGATG GTGTTCTTCG GGAACGTGGA CTCTAGCGGC ATTAAACACA ACATTTTCAA CCCCCCCATC ATTGCTAGGT ATATCAGGCT CCATCCCACC CACTATAGCA TCAGGTCCAC TCTGCGGATG GAGCTGATGG GCTGCGACCT TAATTCATGC AGCATGCCGC TGGGCATGGA GTCAAAGGCC ATCTCCGACG CCCAAATCAC CGCCTCCAGC TACTTCACCA ATATGTTCGC CACCTGGAGC CCCAGCAAGG CCCGGCTGCA CCTGCAGGGC CGCAGCAACG CCTGGCGGCC TCAGGTGAAC AACCCCAAGG AGTGGCTGCA GGTGGACTTC CAGAAAACCA TGAAGGTGAC TGGGGTCACC ACCCAGGGAG TCAAGAGCCT GCTGACCAGC ATGTATGTGA AGGAGTTCTT GATCAGCTCG TCACAGGATG GCCACCAGTG GACTTTGTTC TTTCAGAACG GTAAGGTGAA AGTGTTCCAG GGAAACCAAG ATTCCTTTAC ACCAGTGGTC AACTCTCTGG ATCCTCCCCT GCTGACACGG TACCTGCGGA TCCATCCCCA GTCATGGGTG CACCAGATTG CTCTGCGCAT GGAGGTGCTT GGCTGCGAGG CCCAGGACCT GTACTGAAAT TCGCGGCCGC TAAACCCAGC TTTCTTGTAC AAAGTGGCAA CTTTATTATA CATAGTTGAT CCTCAGGTGC AGGCTGCCTA TCAGAAGGTG GTGGCTGGTG TGGCCAATGC CCTGGCTCAC AAATACCACT GAGATCTTTT TCCCTCTGCC AAAAATTATG GGGACATCAT GAAGCCCCTT GAGCATCTGA CTTCTGGCTA ATAAAGGAAA TTTATTTTCA TTGCAATAGT GTGTTGGAAT TTTTTGTGTC TCTCACTCGG AAGGACATAT GGGAGGGCAA ATCATTTAAA ACATCAGAAT GAGTATTTGG TTTAGAGTTT GGCAACATAT GCCCATATGC TGGCTGCCAT GAACAAAGGT TGGCTATAAA GAGGTCATCA GTATATGAAA CAGCCCCCTG CTGTCCATTC CTTATTCCAT AGAAAAGCCT TGACTTGAGG TTAGATTTTT TTTATATTTT GTTTTGTGTT ATTTTTTTCT TTAACATCCC TAAAATTTTC CTTACATGTT TTACTAGCCA GATTTTTCCT CCTCTCCTGA CTACTCCCAG TCATAGCTGT CCCTCTTCTC TTATGGAGAT C

28	对于 rhFIX Padua CO2 的转录单位	CTCGACATTG ATTATTGACT AGTTATTAAT AGTAATCAAT TACGGGGTCA TTAGTTCATA GCCCATATAT GGAGTTCCGC GTTACATAAC TTACGGTAAA TGGCCCGCCT GGCTGACCGC CCAACGACCC CCGCCCATTG ACGTCAATAA TGACGTATGT TCCCATAGTA ACGCCAATAG GGACTTTCCA TTGACGTCAA TGGGTGGAGT ATTTACGGTA AACTGCCCAC TTGGCAGTAC ATCAAGTGTA TCATATGCCA AGTACGCCCC CTATTGACGT CAATGACGGT AAATGGCCCG CCTGGCATTA TGCCCAGTAC ATGACCTTAT GGGACTTTCC TACTTGGCAG TACATCTACG TATTAGTCAT CGCTATTACC ATGGTCGAGG TGAGCCCCAC GTTCTGCTTC ACTCTCCCCA TCTCCCCCCC CTCCCCACCC CCAATTTTGT ATTTATTTAT TTTTTAATTA TTTTGTGCAG CGATGGGGGC GGGGGGGGGG GGGGGGCGCG CGCCAGGCGG GGCGGGGCGG GGCGAGGGGC GGGGCGGGGC GAGGCGGAGA GGTGCGGCGG CAGCCAATCA GAGCGGCGCG CTCCGAAAGT TTCCTTTTAT GGCGAGGCGG CGGCGGCGGC GGCCCTATAA AAAGCGAAGC GCGCGGCGGG CGGGAGTCGC TGCGCGCTGC CTTCGCCCCG TGCCCCGCTC CGCCGCCGCC TCGCGCCGCC CGCCCCGGCT CTGACTGACC GCGTTACTCC CACAGGTGAG CGGGCGGGAC GGCCCTTCTC CTCCGGGCTG TAATTAGCGC TTGGTTTAAT GACGGCTTGT TTCTTTTCTG TGGCTGCGTG AAAGCCTTGA GGGGCTCCGG GAGGGCCCTT TGTGCGGGGG GAGCGGCTCG GGGGGTGCGT GCGTGTGTGT GTGCGTGGGG AGCGCCGCGT GCGGCTCCGC GCTGCCCGGC GGCTGTGAGC GCTGCGGGCG CGGCGCGGGG CTTTGTGCGC TCCGCAGTGT GCGCGAGGGG AGCGCGGCCG GGGGCGGTGC CCCGCGGTGC GGGGGGGGCT GCGAGGGGAA CAAAGGCTGC GTGCGGGGTG TGTGCGTGGG GGGGTGAGCA GGGGGTGTGG GCGCGTCGGT CGGGCTGCAA CCCCCCCTGC ACCCCCCTCC CCGAGTTGCT GAGCACGGCC CGGCTTCGGG TGCGGGGCTC CGTACGGGGC GTGGCGCGGG GCTCGCCGTG CCGGGCGGGG GGTGGCGGCA GGTGGGGGTG CCGGGCGGGG CGGGGCCGCC TCGGGCCGGG GAGGGCTCGG GGGAGGGGCG CGGCGGCCCC CGGAGCGCCG GCGGCTGTCG AGGCGCGGCG AGCCGCAGCC ATTGCCTTTT ATGGTAATCG TGCGAGAGGG CGCAGGGACT TCCTTTGTCC CAAATCTGTG CGGAGCCGAA ATCTGGGAGG CGCCGCCGCA CCCCCTCTAG CGGGCGCGGG GCGAAGCGGT GCGGCGCCGG CAGGAAGGAA ATGGGCGGGG AGGGCCTTCG TGCGTCGCCG CGCCGCCGTC CCCTTCTCCC TCTCCAGCCT CGGGGCTGTC CGCGGGGGGA CGGCTGCCTT CGGGGGGGAC GGGGCAGGGC GGGGTTCGGC TTCTGGCGTG TGACCGGCGG CTCTAGAGCC TCTGCTAACC ATGTTCATGC CTTCTTCTTT TTCCTACAGC TCCTGGGCAA CGTGCTGGTT ATTGTGCTGT CTCATCATTT TGGCAAAGAA TTGCAAGTTT GTACAAAAAA GCAGGCTGCC ACCATGCAGC GCGTGAACAT GATTATGGCC GAGTCTCCCG GCCTGATCAC CATCTGTCTG CTGGGCTATC TGCTGAGCGC CGAGTGCACC GTGTTTCTGG ATCACGAGAA CGCCAACAAG ATCCTGAACA GACCCAAGCG GTACAACAGC GGCAAGCTGG AAGAGTTCGT GCAGGGCAAC CTGGAACGCG AGTGCATGGA AGAGAAGTGC AGCTTCGAAG AGGCCAGAGA GGTGTTCGAG AACACCGAGA GAACCACCGA GTTCTGGAAG CAGTACGTGG ACGGCGATCA GTGCGAGAGC AACCCTTGTC TGAATGGCGG CAGCTGCAAG GACGACATCA ACAGCTACGA GTGCTGGTGC CCCTTCGGCT TCGAGGGCAA GAATTGCGAG CTGGACGTGA CCTGCAACAT CAAGAACGGC AGATGCGAGC AGTTCTGCAA GAACAGCGCC GACAACAAGG TCGTGTGCTC CTGCACAGAG GGCTACAGAC TGGCCGAGAA CCAGAAGTCT TGCGAGCCCG CTGTGCCCTT TCCATGTGGC AGAGTGTCTG TGTCCCAGAC CAGCAAGCTG ACCAGAGCCG AGACAGTGTT CCCCGACGTG GACTACGTGA ACAGCACCGA GGCCGAGACA ATCCTGGACA ACATCACCCA GAGCACCCAG TCCTTCAACG ACTTCACCAG AGTCGTCGGC GGCGAGGATG CTAAGCCTGG ACAGTTTCCT TGGCAAGTGG TGCTGAACGG CAAGGTGGAC GCTTTTTGTG GCGGCTCCAT CGTGAACGAG AAGTGGATCG TGACCGCCGC TCACTGTGTG GAAACCGGCG TGAAGATTAC AGTGGTGGCC GGCGAGCACA ACATCGAGGA AACAGAGCAC ACCGAGCAGA AACGGAACGT GATCAGAATC ATCCCTCACC ACAACTACAA CGCCGCCATC AACAAGTACA

		ACCACGATAT CGCCCTGCTG GAACTGGACG AGCCCCTGGT CCTGAACTCT TACGTGACCC CTATCTGTAT CGCCGACAAA GAGTACACCA ACATCTTTCT GAAGTTCGGC AGCGGCTACG TGTCCGGCTG GGGAAGAGTT TTCCACAAGG GCAGATCAGC CCTGGTGCTG CAGTACCTGA GAGTGCCCCT GGTGGATAGA GCCACATGCC TGCTGAGCAC CAAGTTCACC ATCTACAACA ACATGTTCTG CGCCGGCTTC CACGAAGGCG GCAGAGATTC TTGTCAAGGC GATTCTGGCG GCCCTCACGT GACAGAGGTT GAGGGCACAA GCTTTCTGAC CGGCATCATC AGCTGGGGCG AAGAGTGTGC CATGAAGGGG AAGTACGGCA TCTACACCAA GGTGTCCAGA TACGTGAACT GGATCAAAGA AAAGACCAAG CTCACCTGAA ATTCGCGGCC GCTAAACCCA GCTTTCTTGT ACAAAGTGGC AACTTTATTA TACATAGTTG ATCCTCAGGT GCAGGCTGCC TATCAGAAGG TGGTGGCTGG TGTGGCCAAT GCCCTGGCTC ACAAATACCA CTGAGATCTT TTTCCCTCTG CCAAAAATTA TGGGGACATC ATGAAGCCCC TTGAGCATCT GACTTCTGGC TAATAAAGGA AATTTATTTT CATTGCAATA GTGTGTTGGA ATTTTTTGTG TCTCTCACTC GGAAGGACAT ATGGGAGGGC AAATCATTTA AAACATCAGA ATGAGTATTT GGTTTAGAGT TTGGCAACAT ATGCCCATAT GCTGGCTGCC ATGAACAAAG GTTGGCTATA AAGAGGTCAT CAGTATATGA AACAGCCCCC TGCTGTCCAT TCCTTATTCC ATAGAAAAGC CTTGACTTGA GGTTAGATTT TTTTTATATT TTGTTTTGTG TTATTTTTTT CTTTAACATC CCTAAAATTT TCCTTACATG TTTTACTAGC CAGATTTTTC CTCCTCTCCT GACTACTCCC AGTCATAGCT GTCCCTCTTC TCTTATGGAG ATC

表 8: 另外的氨基酸序列

SEQ ID NO.	蛋白名称	氨基酸序列
29	白介素 -2	MYRMQLLSCI ALSLALVTNS APTSSSTKKT QLQLEHLLLD LQMILNGINN 50 YKNPKLTRML TFKFYMPKKA TELKHLQCLE EELKPLEEVL NLAQSKNFHL 100 RPRDLISNIN VIVLELKGSE TTFMCEYADE TATIVEFLNR WITFCQSIIS 150 TLT 153
30	甲状旁腺激素，截短的	MIPAKDMAKV MIVMLAICFL TKSDGKSVKK RSVSEIQLMH NLGKHLNSME 50 RVEWLRKKLQ DVHNF 65
31	甲状旁腺激素	MIPAKDMAKV MIVMLAICFL TKSDGKSVKK RSVSEIQLMH NLGKHLNSME 50 RVEWLRKKLQ DVHNFVALGA PLAPRDAGSQ RPRKKEDNVL VESHEKSLGE 100 ADKADVNVLT KAKSQ 115
32	冯氏因子，截短的1	MIPARFAGVL LALALILPGT LCSLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK 49 TCQNYDLECM SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE 99 TVKIGCNTCV CRDRKWNCTD HVCDATCSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGECQ 149 YVLVQDYCGS NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTILVE GGEIELFDGE 199 VNVKRPMKDE THFEVVESGR YIILLLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE 249 KVCGLCGNFD GIQNNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD 299 SSPATCHNNI MKQTMVDSSC RILTSDVFQD CNKLVDPEPY LDVCIYDTCS 349 CESIGDCACF CDTIAAYAHV CAQHGKVVTW RTATLCPQSC EERNLRENGY 399 ECEWRYNSCA PACQVTCQHP EPLACPVQCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC 449 VDPEDCPVCE VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP 499 GGLVVPP 506
33	冯氏因子，截短的2	MIPARFAGVL LALALILPGT LCAEGTRGRS STARCSLFGS DFVNTFDGSM 50 YSFAGYCSYL LAGGCQKRSF SIIGDFQNGK RVSLSVYLGE FFDIHLFVNG 100 TVTQGDQRVS MPYASKGLYL ETEAGYYKLS GEAYGFVARI DGSGNFQVLL 150 SDRYFNKTCG LCGNFNIFAE DDFMTQEGTL TSDPYDFANS WALSSGEQWC 200 ERASPPSSSC NISSGEMQKG LWEQCQLLKS TSVFARCHPL VDPEPFVALC 250

		EKTLCECAGG LECACPALLE YARTCAQEGM VLYGWTDHSA CSPVCPAGME 300 YRQCVSPCAR TCQSLHINEM CQERCVDGCS CPEGQLLDEG LCVESTECPC 350 VHSGKRYPPG TSLSRDCNTC ICRNSQWICS NEECPGECLV TGQSHFKSFD 400 NRYFTFSGIC QYLLARDCQD HSFSIVIETV QCADDRDAVC TRSVTVRLPG 450 LHNSLVKLKH GAGVAMDGQD VQLPLLKGDL RIQHTVTASV RLSYGEDLQM 500 DWDGRGRLLV KLSPVYAGKT CGLCGNYNGN QGDDFLTPSG LAEPRVEDFG 550 NAWKLHGDCQ DLQKQHSDPC ALNPRMTRFS EEACAVLTSP TFEACHRAVS 600 PLPYLRNCRY DVCSCSDGRE CLCGALASYA AACAGRGVRV AWREPGRCEL 650 NCPKGQVYLQ CGTPCNLTCR SLSYPDEECN EACLEGCFCP PGLYMDERGD 700 CVPKAQCPCY YDGEIFQPED IFSDHHTMCY CEDGFMHCTM SGVPGSLLPD 750 AVLSSPLSHR SKRSLSCRPP MVKLVCPADN LRAEGLECTK TCQNYDLECM 800 SMGCVSGCLC PPGMVRHENR CVALERCPCF HQGKEYAPGE TVKIGCNTCV 850 CRDRKWNCTD HVCDATCSTI GMAHYLTFDG LKYLFPGECQ YVLVQDYCGS 900 NPGTFRILVG NKGCSHPSVK CKKRVTILVE GGEIELFDGE VNVKRPMKDE 950 THFEVVESGR YIILLLGKAL SVVWDRHLSI SVVLKQTYQE KVCGLCGNFD 1000 GIQNNDLTSS NLQVEEDPVD FGNSWKVSSQ CADTRKVPLD SSPATCHNNI 1050 MKQTMVDSSC RILTSDVFQD CNKLVDPEPY LDVCIYDTCS CESIGDCACF 1100 CDTIAAYAHV CAQHGKVVTW RTATLCPQSC EERNLRENGY ECEWRYNSCA 1150 PACQVTCQHP EPLACPVQCV EGCHAHCPPG KILDELLQTC VDPEDCPVCE 1200 VAGRRFASGK KVTLNPSDPE HCQICHCDVV NLTCEACQEP GGLVVPP 1247
34	Fc	EPKSCDKTHT CPPCPAPELL GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD 50 VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLN 100 GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR DELTKNQVSL 150 TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTTP PVLDSDGSFF LYSKLTVDKS 200 RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK 232
35	白蛋白	DAHKSEVAHR FKDLGEENFK ALVLIAFAQY LQQCPFEDHV KLVNEVTEFA 50 KTCVADESAE NCDKSLHTLF GDKLCTVATL RETYGEMADC CAKQEPERNE 100 CFLQHKDDNP NLPRLVRPEV DVMCTAFHDN EETFLKKYLY EIARRHPYFY 150 APELLFFAKR YKAAFTECCQ AADKAACLLP KLDELRDEGK ASSAKQRLKC 200 ASLQKFGERA FKAWAVARLS QRFPKAEFAE VSKLVTDLTK VHTECCHGDL 250 LECADDRADL AKYICENQDS ISSKLKECCE KPLLEKSHCI AEVENDEMPA 300 DLPSLAADFV ESKDVCKNYA EAKDVFLGMF LYEYARRHPD YSVVLLLRLA 350 KTYETTLEKC CAAADPHECY AKVFDEFKPL VEEPQNLIKQ NCELFEQLGE 400 YKFQNALLVR YTKKVPQVST PTLVEVSRNL GKVGSKCCKH PEAKRMPCAE 450 DYLSVVLNQL CVLHEKTPVS DRVTKCCTES LVNRRPCFSA LEVDETYVPK 500 EFNAETFTFH ADICTLSEKE RQIKKQTALV ELVKHKPKAT KEQLKAVMDD 550 FAAFVEKCCK ADDKETCFAE EGKKLVAASQ AALGL 585
36	FIX-Padua	MQRVNMIMAE SPGLITICLL GYLLSAECTV FLDHENANKI LNRPKRYNSG KLEEFVQGNL ERECMEEKCS FEEAREVFEN TERTTEFWKQ YVDGDQCESN PCLNGGSCKD DINSYECWCP FGFEGKNCEL DVTCNIKNGR CEQFCKNSAD NKVVCSCTEG YRLAENQKSC EPAVPFPCGR VSVSQTSKLT RAETVFPDVD YVNSTEAETI LDNITQSTQS FNDFTRVVGG EDAKPGQFPW QVVLNGKVDA FCGGSIVNEK WIVTAAHCVE TGVKITVVAG EHNIEETEHT EQKRNVIRII PHHNYNAAIN KYNHDIALLE LDEPLVLNSY VTPICIADKE YTNIFLKFGS GYVSGWGRVF HKGRSALVLQ YLRVPLVDRA TCLLSTKFTI YNNMFCAGFH EGGRDSCQGD SGGPHVTEVE GTSFLTGIIS WGEECAMKGK YGIYTKVSRY VNWIKEKTKL T

图17

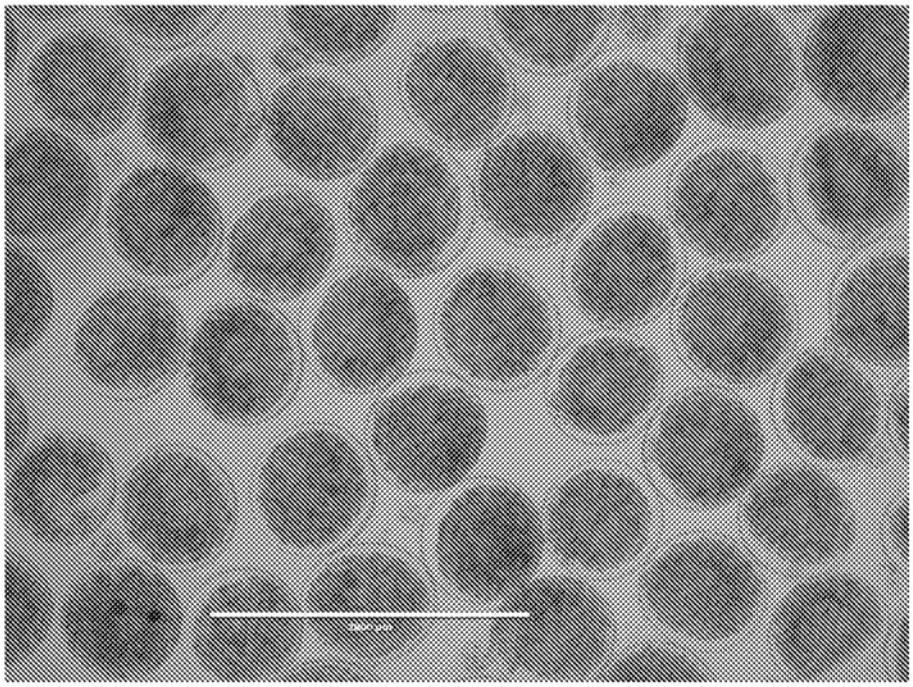


图18A

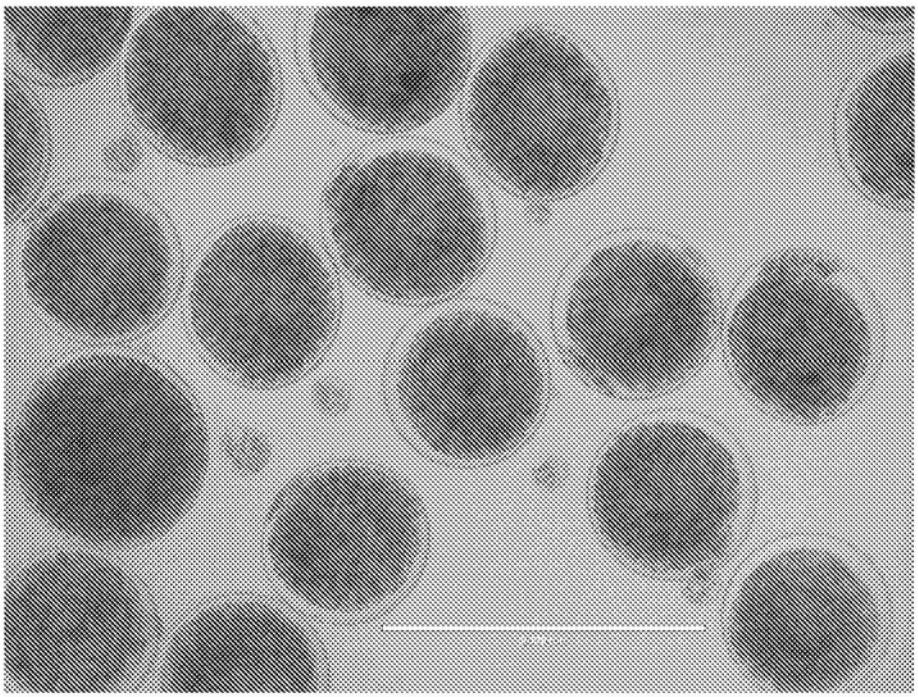


图18B